

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410039976.6

[51] Int. Cl.

C11D 3/386 (2006.01)

C12N 9/54 (2006.01)

A61K 8/66 (2006.01)

A61Q 11/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年7月1日

[11] 授权公告号 CN 100506963C

[22] 申请日 1998.10.23

[21] 申请号 200410039976.6

分案原申请号 98812637.0

[30] 优先权

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956323

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956564

[32] 1997.10.23 [33] US [31] 08/956324

[73] 专利权人 詹伦卡国际有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 C·K·高希 A·C·贝克

R·奥塔尼 A·布施

M·S·肖维尔 V·彻尔伦伯格

小J·T·凯利斯 C·佩斯

J·纳德赫尼 D·P·纳基

K·D·科利尔

R·M·卡尔德维尔

A·J·普洛瑟

[56] 参考文献

WO9530010A 1995.11.9

WO9530011A 1995.11.9

WO9900345A 1999.1.7

US4259357A 1981.3.31

WO8808165A 1988.10.20

审查员 赵小凌

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 郭广迅

权利要求书6页 说明书132页 附图6页

[54] 发明名称

包含多取代的蛋白酶变体的漂白组合物

[57] 摘要

包含蛋白酶变体的漂白组合物及其用法。一种漂白组合物，其包含蛋白酶变体，漂白剂和一种或多种清洗辅助物质，所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的103位置的氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基，同时结合在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的如说明书所述位置的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基。另一种漂白组合物包含蛋白酶变体，漂白剂和一种或多种清洗辅助物质，所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的62、212、230、232、252和257位的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基。

1. 一种漂白组合物，其包含：

(a) 有效量的蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 230 和 232 位置中的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b) 一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物形成的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

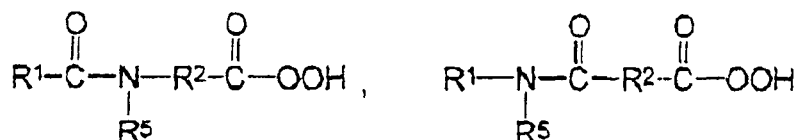
(c) 一种或多种清洗辅助材料。

2. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述蛋白酶变体是由枯草芽孢杆菌衍生得到。

3. 根据权利要求 2 的漂白组合物，其中所述蛋白酶变体是由缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素或枯草溶菌素 309 衍生得到。

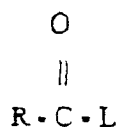
4. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白剂选自：

(i) 一种有机过氧酸，其选自下式的有机过氧酸；



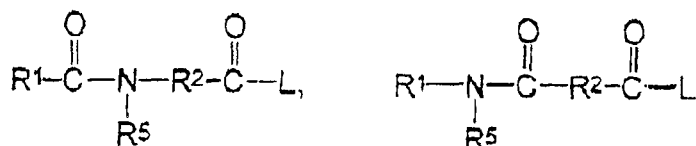
其中， R^1 为含有 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基， R^2 为含有 1-14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基，和 R^5 为 H 或含有 1-10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基；E-苯二甲酰亚氨基-过氧己酸和其混合物；和

(ii) 漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸，其中所述漂白活化剂具有通式：



其中 R 是含有约 5-18 个碳原子的烷基，其中从羰基碳延伸的和包括羰基碳的最长的直链烷基含有 6-10 个碳原子，L 是离去基团，其共轭酸的 pKa 为 4-13。

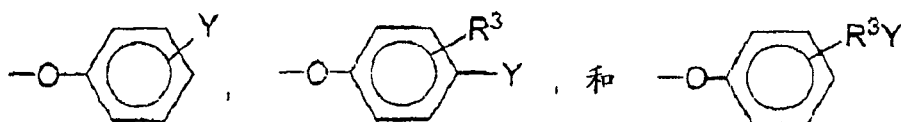
5. 根据权利要求 4 的漂白组合物，其中所述漂白活化剂具有通式：



或其混合物，其中 R^1 为含有 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基， R^2 为含有 1-14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基， R^5 为 H 或含有 1-10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基，和 L 是离去基团。

6. 根据权利要求 5 的漂白组合物，其中 R^1 是含有 6-12 个碳原子的烷基， R^2 含有 1-8 个碳原子， R^5 是 H 或甲基。

7. 根据权利要求 6 的漂白组合物，其中 R^1 是含有 7-10 个碳原子的烷基， R^2 含有 4-5 个碳原子，其中 L 选自：



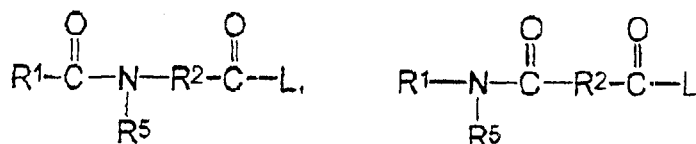
其中 R^3 是含有 1-8 个碳原子的烷基链，Y 是 $-\text{SO}_3^- \text{M}^+$ 或 $-\text{CO}_2^- \text{M}^+$ ，其中 M 是钠或钾。

8. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白剂包括选自以下的漂白活化剂：四乙酰乙二胺、苯甲酰己内酰胺、4-硝基苯甲酰己内酰胺、3-氯代苯甲酰己内酰胺、苯甲酰氧基苯磺酸盐、壬酰氧基苯磺酸盐、苯甲酸苯酯、癸酰氧基苯磺酸盐、苯甲酰戊内酰胺、辛酰氧基苯磺酸盐、可过水解的酯、4-[N-(壬酰基)氨基己酰基氧]苯磺酸钠、月桂基氧基苯磺酸盐、10-十一碳烯酰基氧基苯磺酸盐和癸酰基氧基苯甲酸和其混合物，还任选地包含漂白催化剂。

9. 根据权利要求 8 的漂白组合物，其中所述漂白催化剂为 3-(3,4-二氢异喹啉)丙磺酸盐。

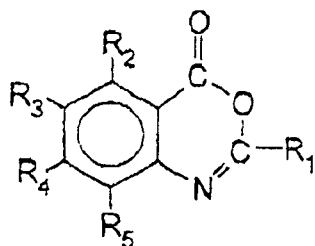
10. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白剂包含占该漂白剂重量至少约 0.1% 的能够在水溶液中产生过氧化氢的过氧漂白化合物和占该漂白剂重量至少 0.1% 的一种或多种漂白活化剂，其中所述漂白活化剂选自：

a) 以下通式的漂白活化剂或其混合物：



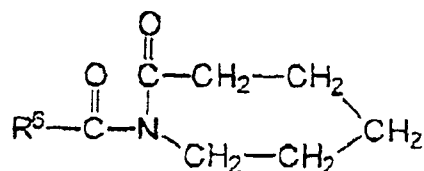
其中, R^1 为含有 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基, R^2 为含有 1-14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基, R^5 为 H 或含有 1-10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基, 和 L 是离去基团;

b) 以下通式的苯并噁嗪型漂白活化剂:



其中 R_1 是 H、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基, 和其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_5 可以是相同或不同的取代基, 其选自 H、卤素、烷基、链烯基、芳基、羧基、烷氧基、氨基、烷基氨基、 $-COOR_6$, 其中 R_6 是 H 或烷基, 和羰基官能团;

c) 以下通式的 N-酰基己内酰胺漂白活化剂:



其中 R^6 是 H 或含有 1-12 个碳原子的烷基、芳基、烷氧基芳基或烷芳基; 和

d) a)、b) 和 c) 的混合物。

11. 根据权利要求 1 的漂白组合物, 其中有机过氧酸漂白剂的相应羧酸的亲水-亲油平衡值为 3-6.5。

12. 根据权利要求 1 的漂白组合物, 其中所述清洗辅助物质选自表面活性剂、溶剂、缓冲剂、酶、污垢解脱剂、粘土污垢去除剂、分散剂、增白剂、抑泡剂、织物柔软剂、增泡剂、酶稳定剂、助洗剂、其他漂白剂、染料、香料、螯合剂和其混合物。

13. 根据权利要求 12 的漂白组合物, 其中所述清洗辅助物质包括

至少一种去污表面活性剂。

14. 根据权利要求 13 的漂白组合物，其中所述去污表面活性剂为支化表面活性剂。

15. 根据权利要求 15 的漂白组合物，其中所述去污表面活性剂为中链支化的表面活性剂。

16. 根据权利要求 12 的漂白组合物，其中清洗辅助物质包括占组合物重量至少约 0.1% 表面活性剂，所述表面活性剂包括选自以下的物质：烷基苯磺酸盐、伯烷基硫酸盐、仲烷基硫酸盐、烷基烷氧基硫酸盐、烷基烷氧基羧酸盐、烷基多苷和它们相应的硫酸化多苷、 α -磺化的脂肪酸酯、烷基和烷基酚烷氧基化物、甜菜碱和磺基甜菜碱、氧化胺、N-甲基葡萄糖酰胺、非离子伯醇乙氧基化物、带有混合的乙氧基/丙氧基的非离子伯醇和其混合物。

17. 根据权利要求 16 的漂白组合物，其还包含至少约 5% 助洗剂，其选自沸石、多羧酸盐、层状硅酸盐、磷酸盐和其混合物。

18. 根据权利要求 12 的漂白组合物，其中所述清洗辅助物质包括至少一种去污酶，其选自纤维素酶、脂肪酶、淀粉酶、磷脂酶、其他蛋白酶、过氧化物酶和其混合物。

19. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白组合物是织物漂白组合物，其包含占该组合物重量至少约 5% 表面活性剂和至少约 5% 助洗剂。

20. 根据权利要求 19 的漂白组合物，其中所述漂白组合物是液体、颗粒、片、粉末或条形式。

21. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白组合物是织物漂白组合物，其包含：

- (a) 0.0001%-10% 重量的所述蛋白酶变体；
- (b) 0.5%-20% 重量所述漂白剂；
- (c) 至少约 5% 重量表面活性剂；和
- (d) 至少约 5% 重量助洗剂。

22. 根据权利要求 21 的漂白组合物，其中所述表面活性剂选自烷基苯磺酸盐、伯烷基硫酸盐、仲烷基硫酸盐、烷基烷氧基硫酸盐、烷基烷氧基羧酸盐、烷基多苷和它们相应的硫酸化多苷、 α -磺化的脂肪酸酯、烷基和烷基酚烷氧基化物、甜菜碱和磺基甜菜碱、氧化胺、N-甲基葡萄糖

酰胺、非离子伯醇乙氧基化物、带有混合的乙氧基/丙氧基的非离子伯醇和其混合物。

23. 根据权利要求 21 的漂白组合物，其中所述助洗剂选自沸石、多羧酸盐、层状硅酸盐、磷酸盐和其混合物。

24. 根据权利要求 21-23 中任一项的漂白组合物，其是包含至少约 15%表面活性剂的浓缩粒状织物漂白组合物形式。

25. 一种清洗织物的方法，所述方法包括将需要清洗的织物与根据权利要求 19-24 中任一项的漂白组合物接触。

26. 根据权利要求 1 的漂白组合物，其中所述漂白组合物是洗餐具漂白组合物，其包含：

(a) 按洗餐具漂白组合物的重量计，0.0001%-10%所述蛋白酶变体；

(b) 按洗餐具漂白组合物的重量计，0.5%-20%所述漂白剂；

(c) 按洗餐具漂白组合物的重量计，0.1%-10%表面活性剂。

27. 根据权利要求 26 的漂白组合物，其中所述漂白组合物是液体、颗粒、粉末或片形式。

28. 一种清洗餐具的方法，所述方法包括将需要清洗的餐具与根据权利要求 26 或 27 的漂白组合物接触。

29. 一种个人清洗组合物，其包含：

(a) 按该个人清洗组合物的重量计，0.001%-5%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 230 和 232 位置中的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b) 按该个人清洗组合物的重量计，0.5%-20%漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物形成的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c) 按该个人清洗组合物的重量计，0.1%-95%表面活性剂体系；和

(d) 任选地，按该个人清洗组合物的重量计，0.05%-50%酶稳定剂。

30. 根据权利要求 29 的漂白组合物，其中包含按该个人清洗组合物的重量计 0.001%-2%蛋白酶变体。

31. 根据权利要求 30 的漂白组合物，其中包含按该个人清洗组合物的重量计 0.01%-0.8%蛋白酶变体。

32. 根据权利要求 31 的漂白组合物, 其中所述表面活性剂体系包含一种或多种选自以下的表面活性剂: 阴离子羧酸盐、氧化胺、烷基葡糖苷、葡糖酰胺、烷基硫酸盐、烷基醚硫酸盐、酰基羟乙磺酸盐、烷基磺基琥珀酸盐、烷基磷酸酯、乙氧基化磷酸酯、烷基甘油醚磺酸盐和其混合物。

33. 根据权利要求 32 的漂白组合物, 其中所述表面活性剂体系包含选自以下的一种或多种表面活性剂: 皂、酰基谷氨酸盐、烷基肌氨酸盐、月桂基氧化胺、椰油基氧化胺、椰油酰氨基丙基氧化胺、癸基葡糖苷、月桂基硫酸盐、月桂醚硫酸盐、 C_{12-18} 酰基羟乙磺酸盐和其混合物。

34. 根据权利要求 29 的漂白组合物, 其中所述表面活性剂是皂, 按漂白组合物的重量计, 其含量为至少约 2%。

35. 根据权利要求 34 的漂白组合物, 其中所述表面活性剂是皂, 按漂白组合物的重量计, 其含量为至少约 10%。

36. 根据权利要求 35 的漂白组合物, 其中所述表面活性剂是皂, 按漂白组合物的重量计, 其含量为至少约 25%。

37. 根据权利要求 34-36 中任一项的漂白组合物, 其中皂与蛋白酶变体的比例为 2000:1-8:1。

38. 根据权利要求 37 的漂白组合物, 其中皂与蛋白酶变体的比例为 400:1-40:1。

39. 一种个人清洗方法, 所述方法包括将需要清洗的人体或低级动物体部分与根据权利要求 29-38 中任一项的漂白组合物接触。

40. 一种预处理需要清洗的织物的方法, 所述方法包括在用含有表面活性剂的水溶液洗涤所述织物之前, 将所述织物与根据权利要求 19-23 中任一项的漂白组合物接触。

包含多取代的蛋白酶变体的漂白组合物

本申请是申请日为1998年10月23日、申请号为98812637.0的专利申请的分案申请。

发明领域

本发明涉及包含一种或多种蛋白酶和具有一种或多种漂白剂，尤其是漂白活化剂的漂白体系的漂白组合物，特别是洗衣洗涤剂和使用这种漂白组合物的方法，其中所述蛋白酶是多取代的蛋白酶变体。

发明背景

长期以来，在洗衣洗涤剂中常规使用各种类型的酶以助于从织物上去除某些污渍。这些污渍一般与类脂和蛋白污垢有关。然而，已证实酶对其他类型的污垢和污渍有较低的效果。

1997年10月10日授权的Ghosh等的美国专利5677272公开了漂白组合物，其包含：1)一种蛋白酶变体，其包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的76位置处，同时结合99, 101, 103, 104, 107, 123, 27, 105, 109, 126, 128, 135, 156, 166, 195, 197, 204, 206, 210, 216, 217, 218, 222, 260, 265和/或274位中的一个或多个位置处用其他氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；2)一种漂白剂；和3)一种或多种与蛋白酶变体和漂白剂相容的漂白组合物材料。

然而，对更有效地去除污渍和/或使污秽清洁的常规漂白组合物的需求仍存在。

本发明，已发现新蛋白酶和漂白剂，尤其是和漂白活化剂的组合，其中所述新蛋白酶是多取代的蛋白酶变体，该组合物比常规漂白组合物增强和改善了去污渍和/或使污秽清洁的效果。

因此，本发明的目的是提供漂白组合物，特别是洗衣洗涤剂组合物，其具有改善的去污渍和/或污垢和/或使污秽清洁的效果和/或清洁织物效果和/或漂白性质。

由下文的详细描述，本发明的这些和其他目的将是显然的。

发明概述

本发明满足了上述需求，在于令人吃惊地发现本发明多取代的蛋白酶变体当用于漂白组合物中时比含常规蛋白酶的漂白组合物提供了改善和增强的清洗效果，包括，但不限于去除和/或减少污渍和/或污垢和/或保持白度和/或使污秽清洁和/或去除和/或减少污斑和/或膜。

本发明多取代的蛋白酶变体适用于高和低密度颗粒、重垢和轻垢型液体、片、粉末、凝胶体、泡沫体、喷洒剂、膏体以及合成洗涤剂条组合物和其他漂白组合物。

本发明的一方面，漂白组合物包含：

(a)蛋白酶变体，优选有效量的蛋白酶变体，按该漂白组合物的重量计更优选约 0.0001%-10%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 103 位的氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基，同时结合在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 1、3、4、8、9、10、12、13、16、17、18、19、20、21、22、24、27、33、37、38、42、43、48、55、57、58、61、62、68、72、75、76、77、78、79、86、87、89、97、98、99、101、102、104、106、107、109、111、114、116、117、119、121、123、126、128、130、131、133、134、137、140、141、142、146、147、158、159、160、166、167、170、173、174、177、181、182、183、184、185、188、192、194、198、203、204、205、206、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、222、224、227、228、230、232、236、237、238、240、242、243、244、245、246、247、248、249、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、265、268、269、270、271、272、274 和 275 位的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；其中当所述蛋白酶变体包括在对应于 103 和 76 位置处的氨基酸残基的取代时，还存在于非对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 位的氨基酸残基位置的一个或多个氨基酸残基位置处的氨基酸残基的取代；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)一种或多种清洗辅助材料。

本发明另一方面，提供了一种织物漂白组合物，其包含：

(a)有效量，按织物漂白组合物的重量计优选约 0.0001%-10%上述的蛋白酶变体；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；

(c)按织物漂白组合物重量计至少约5%的表面活性剂；和

(d)按织物漂白组合物重量计至少约5%的助洗剂。

本发明还一方面，提供了一种清洗需要被清洁的织物的方法，包括将织物与本发明的织物漂白组合物接触。

本发明还一个方面，提供了一种洗餐具漂白组合物，其包含：

(a)有效量，按洗餐具组合物的重量计，优选约0.0001%-10%上述的蛋白酶变体；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)约0.1%-10%重量表面活性剂。

本发明还一个方面，提供了一种清洗需要被清洁的餐具的方法，其包括将餐具与本发明洗餐具漂白组合物接触。

本发明还一个方面，提供了一种个人清洗组合物，其包含：

(a)有效量，按个人清洗组合物的重量计，优选约0.001%-5%上述的蛋白酶变体；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)按个人清洗组合物的重量计，约0.1%-95%表面活性剂体系；和

(d)任选地，按个人清洗组合物的重量计，约0.05%-50%酶稳定剂。

本发明还一个方面，提供了一种个人清洗需要被清洁的人体或低级动物体部分的方法，包括将所述部分与本发明个人清洗组合物接触。

本发明还一个方面，提供了一种漂白组合物，其包含：

(a)蛋白酶变体，优选有效量的蛋白酶变体，按该漂白组合物的重量计更优选约0.0001%-10%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的62、212、230、232、252和257位置处的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)一种或多种清洗辅助材料。

本发明还一个方面，提供了一种织物漂白组合物，其包含：

(a)有效量，按该织物漂白组合物的重量计优选约 0.0001%-10%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 62、212、230、232、252 和 257 位置处的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)按该织物漂白组合物的重量计，至少约 5%表面活性剂；和

(d)按该织物漂白组合物的重量计，至少约 5%助洗剂。

本发明还一个方面，提供了一种清洗需要被清洁的织物的方法，其包括将织物与本发明织物漂白组合物接触。

本发明还一个方面，提供了一种洗餐具漂白组合物，其包含：

(a)有效量，按该织物漂白组合物的重量计优选约 0.0001%-10%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 62、212、230、232、252 和 257 位置处的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；和

(c)按该洗餐具组合物的重量计，约 0.1%-10%表面活性剂。

本发明还一个方面，提供了一种清洗需要被清洁的餐具的方法，其包括将餐具与本发明洗餐具漂白组合物接触。

本发明还一个方面，提供了一种个人清洗组合物，其包含：

(a)有效量，按该个人清洗组合物的重量计优选约 0.001%-5%蛋白酶变体，其中所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 62、212、230、232、252 和 257 位置处的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基；

(b)一种漂白剂，其是有机过氧酸或是漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧化化合物的混合物，所述产生的过氧化氢可在由该组合物制得的漂白溶液中就地与活化剂反应形成有机过氧酸；

(c)按该个人清洗组合物的重量计，约 0.1%-95%表面活性剂体系；
和

(d)任选地，按该个人清洗组合物的重量计，约 0.05%-50%酶稳定剂。

本发明还一个方面，提供了一种个人清洗需要被清洁的人体或低级动物体部分的方法，包括将所述部分与本发明个人清洗组合物接触。

因此，本发明的目的是提供含有蛋白酶变体的漂白组合物，其能够改善和增强对织物、器皿、餐具、厨具、炊具和其他硬表面载污体的清洗。本发明还一个目的是通过使用本发明含蛋白酶变体的漂白组合物来提供清洗织物、器皿、餐具、厨具、炊具和其他硬表面载污体的方法。

由以下的详细描述、实施例和所附的权利要求书，本发明的这些和其他目的、特征和优点将是显然的。

除非另外说明，本发明的所有百分数、比例和比率是按重量计。本文引用的所有文献在此引用作参考。

附图简述

图 1 A-C 描述了淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 DNA 和氨基酸序列和该基因的部分限制图。

图 2 描述了得自淀粉分解芽孢杆菌 (BPN') 和缓慢芽孢杆菌 (野生型) 的枯草溶菌素中的保守氨基酸残基。

图 3A 和 3B 描述了四种枯草溶菌素的氨基酸序列。上部的线表示得自淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素 (有时还称为枯草溶菌素 BPN') 的枯草溶菌素的氨基酸序列。第二条线描述了得自枯草芽孢杆菌的枯草溶菌素的氨基酸序列。第三条线描述了得自地衣形芽孢杆菌的枯草溶菌素的氨基酸序列。第四条线描述了得自缓慢芽孢杆菌的枯草溶菌素 (在 PCTW089/06276 中还称为枯草溶菌素 309) 的枯草溶菌素的氨基酸序列。符号*表示与枯草溶菌素 BPN' 相比，不存在特定的氨基酸残基。

发明详述

本发明使用的漂白组合物改善和增强了对织物、器皿、厨具、餐具和其他硬表面的清洗，如本文更充分描述的，从织物和其他硬表面上去

除和/或减少了污垢和/或污渍，和从器皿和其他硬表面上去除和/或减少了污斑和/或膜。

漂白体系与本发明蛋白酶的组合同时对从织物上去除大多数类型的污垢特别有效，所述污垢包括蛋白和类脂污垢、污秽污垢和重载垢，特别是亲核性的和人体污垢。

本发明有用的蛋白酶、漂白剂（包括过氧酸和漂白体系）和清洗辅助材料，包括优选的含量在下文被详细描述。

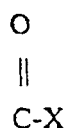
1. 蛋白酶-蛋白酶是通常起到使蛋白质或肽的肽键断开作用的羧基水解酶。这里所述的“蛋白酶”意思是天然产生的蛋白酶或重组蛋白酶。天然产生的蛋白酶包括 α -氨基酰基肽水解酶、肽基氨基酸水解酶、酰基氨基水解酶、丝氨酸羧基肽酶、金属羧基肽酶、硫醇蛋白酶、羧基蛋白酶和金属蛋白酶。包括丝氨酸、金属、硫醇和酸蛋白酶以及内切和外切蛋白酶。

本发明包括蛋白酶，其是非天然产生的羧基水解酶变体（蛋白酶变体），其与产生该变体的氨基酸序列的前体羧基水解酶相比具有不同的蛋白水解活性、稳定性、基质特异性、pH 范围和/或性能特征。具体而言，这种蛋白酶变体具有在自然界中未发现的氨基酸序列，其由用不同的氨基酸取代前体蛋白酶的多个氨基酸残基得到。该前体蛋白酶可以是天然产生的蛋白酶或重组蛋白酶。如先前所述，蛋白酶变体被设计成具有似胰蛋白酶的特异性并优选还是漂白稳定的。

本发明有用的蛋白酶变体包括任何十九个天然产生的 L-氨基酸在指定氨基酸残基位置处的取代。这种取代可在任何前体枯草溶菌素（原核生物、真核生物、哺乳动物等）中进行。本申请中，通过普通的 1 和 3 个字母编码的方式来参考各种氨基酸。这种编码确定在 Dale, M.W. (1989), 细菌的分子遗传, John Wiley & Sons, Ltd., 附录 B 中。

本发明有用的蛋白酶变体优选得自芽孢杆菌枯草溶菌素。更优选，该蛋白酶变体得自缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素和/或枯草溶菌素 309。

羧基水解酶-羧基水解酶是水解含：



键的化合物的蛋白酶，其中 X 是氧或氮。它们包括天然产生的羧基水解酶和重组羧基水解酶。天然产生的羧基水解酶主要包括水解酶例如肽水解酶例如枯草溶菌素或金属蛋白酶。肽水解酶包括 α -氨基酰基肽水解酶、肽基氨基酸水解酶、酰基氨基水解酶、丝氨酸羧基肽酶、金属羧基肽酶、硫醇蛋白酶、羧基蛋白酶和金属蛋白酶。包括丝氨酸、金属、硫醇和酸蛋白酶以及内切和外切蛋白酶。

枯草溶菌素-枯草溶菌素是细菌或真菌蛋白酶，其一般起到使蛋白质或肽的肽键断开的作用。这里所述的“枯草溶菌素”意思是天然产生的枯草溶菌素或重组枯草溶菌素。一组天然产生的枯草溶菌素已知是可生产的并通常由各种微生物品种分泌。该组中的枯草溶菌素的氨基酸序列不完全是同源的。然而，该组中的枯草溶菌素表现出相同或相似类型的蛋白水解活性。此类丝氨酸蛋白酶具有定义催化三分体的普通氨基酸序列，它们不同于胰凝乳蛋白酶相关类型的丝氨酸蛋白酶。该枯草溶菌素和胰凝乳蛋白酶相关的丝氨酸蛋白酶都具有催化三分体，包括天冬氨酸、组氨酸和丝氨酸。在枯草溶菌素相关的蛋白酶中，这些氨基酸的相对顺序，从与端羧基相连的氨基读起，是天冬氨酸-组氨酸-丝氨酸。然而，在胰凝乳蛋白酶相关的蛋白酶中，相对的顺序是组氨酸-天冬氨酸-丝氨酸。因此，本发明的枯草溶菌素是指具有枯草溶菌素相关的蛋白酶的催化三分体的丝氨酸蛋白酶。实例包括，但不限于：在本文的图 3 中确定的枯草溶菌素。一般，对于本发明目的，蛋白酶的氨基酸编号对应于在图 1 中所示的成熟的淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素序列给定的编号。

蛋白酶变体-“蛋白酶变体”具有从“前体蛋白酶”的氨基酸序列衍生得到的氨基酸序列。前体蛋白酶包括天然产生的蛋白酶和重组蛋白酶。蛋白酶变体的氨基酸序列是通过前体氨基酸序列中的一个或多个氨基酸的取代、缺失或插入而由前体蛋白酶氨基酸序列“衍生”得到。这种修饰是对“前体 DNA 序列”的修饰，其编码了前体蛋白酶的氨基酸序列，而不是前体蛋白酶本身的操作。这种操作前体 DNA 序列的适合方法包括本文中公开的方法以及本领域技术人员公知的方法（参见，例如 EP0328299，W089/06279 和本文已参考的美国专利和申请）。

在优选的实施方案中，该蛋白酶变体是本发明漂白组合物中有用的蛋白酶，所述漂白组合物包含下述的蛋白酶变体和一种或多种清洗辅助

材料,所述蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的103位的氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基,同时结合在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的1、3、4、8、9、10、12、13、16、17、18、19、20、21、22、24、27、33、37、38、42、43、48、55、57、58、61、62、68、72、75、76、77、78、79、86、87、89、97、98、99、101、102、104、106、107、109、111、114、116、117、119、121、123、126、128、130、131、133、134、137、140、141、142、146、147、158、159、160、166、167、170、173、174、177、181、182、183、184、185、188、192、194、198、203、204、205、206、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、222、224、227、228、230、232、236、237、238、240、242、243、244、245、246、247、248、249、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、265、268、269、270、271、272、274和275位置处中的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基;其中当所述蛋白酶变体包括在对应于103和76位置处的氨基酸残基的取代时,还存在在非对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265或274位的氨基酸残基位置处的一个或多个氨基酸残基位置处的氨基酸残基的取代。

虽然可使用以上所列的氨基酸取代的任何组合,但本发明适用的优选的蛋白酶变体包括按下列组合方式的取代、缺失或插入氨基酸残基:

(1)一种蛋白酶变体,其包括在103位置和在以下236和245位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(2)一种蛋白酶变体,其包括在103和236位置和在以下12、61、62、68、76、97、98、101、102、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、211、212、213、215、217、230、232、248、252、257、260、270和275位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(3)一种蛋白酶变体,其包括在103和245位置和以下12、61、62、68、76、97、98、101、102、104、109、130、131、159、170、183、185、205、209、210、211、212、213、215、217、222、230、232、248、252、257、260、261、270和275位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;和

(4) 一种蛋白酶变体, 其包括在 103、236 和 245 位置和以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、211、212、213、215、217、230、232、243、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代。

本发明清洗组合物中有用的更优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代(下表 I 中每行一组取代):

表 I

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 98 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 78 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 107 | | | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 246 | | | | | | | | | | |
| 76 | 77 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 183 | 218 | | | | | | | | | |
| 16 | 76 | 103 | 104 | 248 | | | | | | | | | |
| 1 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 261 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 160 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 216 | | | | | | | | | | |
| 17 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 37 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 77 | 103 | 104 | 174 | | | | | | | | | |
| 38 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 38 | 76 | 103 | 104 | 237 | | | | | | | | | |
| 8 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 76 | 103 | 104 | 183 | | | | | | | | | | |
| 19 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 13 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 19 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 184 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 252 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 259 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 251 | | | | | | | | | | |
| 76 | 86 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 72 | 76 | 103 | 104 | 185 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 237 | 274 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 160 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 228 | | | | | | | | | | |
| 55 | 76 | 103 | 104 | 240 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 254 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 204 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 204 | | | | | | | | | | |
| 43 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | | | | | | | | | | |
| 10 | 76 | 103 | 104 | 177 | | | | | | | | | |
| 58 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 270 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 185 | | | | | | | | | | |
| 27 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 262 | | | | | | | | | | |
| 76 | 78 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 24 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 166 | 236 | 251 | | | | | | | | |
| 17 | 76 | 103 | 104 | 237 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 130 | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | | | | | | | | | | |
| 76 | 99 | 103 | 104 | 204 | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 76 | 103 | 104 | 181 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 271 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 252 | 261 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 242 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 271 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 242 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 43 | 76 | 103 | 104 | 116 | 183 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 258 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 271 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 61 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 38 | 76 | 103 | 104 | 182 | 263 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 182 | 272 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 246 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 87 | 103 | 104 | 206 | 249 | 265 | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 137 | 238 | 271 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 103 | 104 | 228 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 182 | 198 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 21 | 76 | 103 | 104 | 182 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 119 | 137 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 137 | 248 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | 76 | 103 | 104 | 206 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 206 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 258 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 58 | 76 | 103 | 104 | 271 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 206 | 261 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 206 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 77 | 103 | 104 | 206 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 158 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 206 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 159 | 217 | 251 | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 159 | 217 | 252 | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|
| 76 | 77 | 103 | 104 | 133 | 185 | 251 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 206 | 244 | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 188 | | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 158 | | | | | | | | | |
| 76 | 77 | 103 | 104 | 185 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 206 | 251 | | | | | | | | | |
| 48 | 76 | 103 | 104 | 111 | 159 | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | | | | | | | | |
| 42 | 76 | 103 | 104 | 159 | | | | | | | | | |
| 12 | 62 | 76 | 103 | 104 | 159 | | | | | | | | |
| 42 | 76 | 103 | 104 | 159 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 146 | 159 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 238 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 224 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 268 | 271 | | | | | | | | |
| 76 | 89 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 76 | 87 | 103 | 104 | 212 | 271 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 245 | 271 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 134 | 141 | 212 | 271 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 236 | 243 | 271 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 245 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 210 | | | | | | | | | |
| 20 | 62 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 236 | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 271 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 217 | 236 | 271 | | | | | | |
| 17 | 68 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | | | | | | | | |
| 68 | 75 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 76 | 103 | 114 | 121 | 159 | 236 | 245 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 209 | 236 | 253 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 117 | 159 | 184 | 236 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 243 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 142 | 159 | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 123 | 159 | 236 | 249 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 249 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 222 | 245 | | | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 222 | 249 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 173 | 222 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 222 | 263 | | | | | | | | | |
| 21 | 76 | 103 | 104 | 222 | 237 | 263 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 222 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 222 | 271 | | | | | | | | |
| 61 | 76 | 103 | 104 | 222 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 137 | 222 | | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 109 | 222 | 248 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 222 | 249 | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 245 | 261 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 141 | 159 | 236 | 245 | 255 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 236 | 245 | 247 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 174 | 204 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 204 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 133 | 159 | 218 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 194 | 203 | 236 | 245 | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 222 | 245 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 245 | | | | | | | | | |
| 24 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| 12 | 76 | 103 | 104 | 222 | 244 | 245 | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 222 | 210 | 245 | | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | | | | | | | |
| 22 | 68 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 184 | | | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 140 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | | |
| 68 | 87 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | 275 | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | 248 | 262 | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 215 | 222 | 245 | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 227 | 245 | 262 | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | 261 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | | | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 218 | 222 | 245 | 262 | 269 | | | | |
| 12 | 57 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | 251 | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 170 | 185 | 222 | 243 | 245 | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | 268 | | | | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 210 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 116 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | | | | | | |
| 10 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 203 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 237 | 245 | | | | | | |
| 68 | 76 | 79 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 183 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 174 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 188 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 98 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 275 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 257 | 275 | | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 224 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 211 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 214 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 20 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 259 | | | |
| 68 | 87 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 261 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 242 | 245 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 48 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 192 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 147 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 272 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 183 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 256 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 27 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 116 | 159 | 170 | 185 | 232 | 236 | 245 | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 99 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 185 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 185 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 216 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 173 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 55 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 255 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 257 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 258 | | | |
| 8 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 269 | | |
| 68 | 103 | 104 | 116 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 18 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 76 | 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 218 | 232 | 236 | 245 | 260 | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 228 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 33 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 76 | 89 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | |
| 61 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 133 | 137 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | |
| 61 | 103 | 104 | 133 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 218 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 160 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 3 | 61 | 68 | 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 167 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 97 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 98 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 99 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 106 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 166 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 103 | 104 | 159 | 217 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 20 | 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 206 | 217 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 27 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 38 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 38 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | 271 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 209 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 205 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 126 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 174 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | 261 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 261 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 12 | 103 | 104 | 159 | 209 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 103 | 104 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 128 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 48 | 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 261 | | | |
| 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 12 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 102 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 244 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | |
| 12 | 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 185 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 109 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 212 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 101 | 103 | 104 | 159 | 212 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 245 | 248 | 252 | | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 230 | 245 | | | | | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 130 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 128 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 128 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 128 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 98 | 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 99 | 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 167 | 170 | 194 | | | | | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 205 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 76 | 101 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 185 | 206 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 271 |

本发明清洗组合物中有用的甚至更优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代(下表 II 中每行一组取代):

表 II

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | A98E | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S78T | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | I107V | | | | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | I246V | | | | | | | | | | |
| N76D | N77D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N183D | N218I | | | | | | | | | |
| A16T | N76D | S103A | V104I | N248D | | | | | | | | | |
| A1E | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N261D | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S160T | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S216C | | | | | | | | | | |
| H17Q | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| S37T | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | N77D | S103A | V104I | A174V | | | | | | | | | |
| T38S | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| T38S | N76D | S103A | V104I | K237Q | | | | | | | | | |
| I8V | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N183D | | | | | | | | | | |
| R19L | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| A13V | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| R19C | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N184D | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N252D | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S259C | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | K251T | | | | | | | | | | |
| N76D | P86S | S103A | V104I | | | | | | | | | | |
| I72V | N76D | S103A | V104I | N185D | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | K237E | T274A | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S160L | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|--|--|
| N76D | S103A | V104I | A228V | | | | | | | | | |
| P55S | N76D | S103A | V104I | S240T | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A254T | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | I104N | N204T | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N204D | | | | | | | | | |
| N43S | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | | | | | | | | | |
| R10H | N76D | S103A | V104I | V177A | | | | | | | | |
| T58S | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A270V | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N185D | | | | | | | | | |
| K27N | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | L262M | | | | | | | | | |
| N76D | S78P | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| S24P | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S166G | Q236R | K251R | | | | | | | |
| H17L | N76D | S103A | V104I | K237E | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S130L | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | | | | | | | | | |
| N76D | S99R | S103A | V104I | N204T | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | D181N | | | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | E271V | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N252K | N261Y | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S242T | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | E271Q | | | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | V104I | S242T | | | | | | | | |
| N43S | N76D | S103A | V104I | N116K | N183I | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G258R | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | E271G | | | | | | | | | |
| G61R | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| T38S | N76D | S103A | V104I | Q182R | Y263H | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q182R | A272S | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | I246V | | | | | | | | |
| N76D | S87G | S103A | V104I | Q206R | H249Q | S265G | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q137R | N238Y | E271V | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|--|--|
| S103A | V104I | A228T | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q182R | I198V | | | | | | | | |
| L21M | N76D | S103A | V104I | Q182R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M119I | Q137R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q137R | N248S | | | | | | | | |
| A13T | N76D | S103A | V104I | Q206R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q206R | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | G258R | | | | | | | | |
| T58S | N76D | S103A | V104I | E271G | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q206E | N261D | | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | Q206E | | | | | | | | |
| N76D | N77D | S103A | V104I | Q206E | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A158E | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q206E | | | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | G159D | L217E | K251Q | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | G159D | L217E | N252D | | | | | | |
| N76D | N77D | S103A | V104I | A133T | N185D | K251T | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | Q206E | V244A | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | S188E | | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | A158E | | | | | | | | |
| N76D | N77D | S103A | V104I | N185D | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q206E | K251T | | | | | | | | |
| A48T | N76D | S103A | V104I | L111M | G159D | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | | | | | | | |
| L42V | N76D | S103A | V104I | G159D | | | | | | | | |
| Q12H | N62H | N76D | S103A | V104I | G159D | | | | | | | |
| L42I | N76D | S103A | V104I | G159D | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G146S | G159D | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | N238S | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | T224A | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | V268F | E271V | | | | | | | |
| N76D | E89A | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| N76D | S87R | S103A | V104I | S212P | E271V | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | Q245L | E271V | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | T134S | S141N | S212P | E271V | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | Q236L | N243S | E271V | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| N76D | S103A | V104I | Q109R | Q245R | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | P210L | | | | | | | | | | | | | | | | |
| G20V | N62S | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | Q236H | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | E271V | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | Q245R | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | L217I | Q236H | E271V | | | | | | | | | | | | | |
| H17Q | V68A | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236R | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | L75K | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | N76D | S103A | A114V | V121I | G159D | Q236H | Q245R | | | | | | | | | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y209S | Q236H | T253K | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | N117K | G159D | N184S | Q236H | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | N243I | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | Q245L | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | A142V | G159D | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | N123S | G159D | Q236H | H249Y | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | H249O | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M222S | Q245R | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | V104I | M222S | H249R | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N173R | M222S | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M222S | Y263F | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L21M | N76D | S103A | V104I | M222S | K237R | Y263F | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | M222S | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | M222S | E271D | | | | | | | | | | | | | | | |
| G61R | N76D | S103A | V104I | M222S | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q137R | M222S | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | Q109R | M222S | N248S | | | | | | | | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M222S | H249R | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | Q245R | N261D | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | S141N | G159D | Q236H | Q245R | T255S | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q236H | Q245R | R247H | | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A174V | N204D | Q236H | Q245R | | | | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | N204D | Q236H | Q245R | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|
| V68A | N76D | S103A | V104I | A133V | G159D | N218D | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A194I | V203A | Q236H | Q245R | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | V104I | M222S | Q245R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q245R | | | | | | | | | |
| S24T | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | M222S | V244I | Q245R | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | M222S | P210T | Q245R | | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | | | | | | | |
| T22K | V68A | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | N184D | | | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N140D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | |
| N43S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | |
| N43K | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | |
| V68A | S87G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | R275S | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | N248S | L262M | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | A215V | M222S | Q245R | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | V227A | Q245R | L262S | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | A215T | M222S | Q245R | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | N261D | | | | | | |
| N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | | | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | N218D | M222S | Q245R | L262S | N269D | | | | |
| Q12R | S57P | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | K251Q | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | R170S | N185D | M222S | N243D | Q245R | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | V268A | | | | | | |
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | P210S | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N116D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | | | | | | |
| R10C | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V203E | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | K237E | Q245R | | | | | | |
| V68A | N76D | I79N | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N183D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A174V | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S188C | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A230T | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | A98T | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215T | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | R275H | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | L257V | R275H | | | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T224A | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211R | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211V | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y214L | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| G20R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S259G | | | | |
| V68A | S87R | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260V | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261G | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261W | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | S242P | Q245R | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| Q12R | A48V | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | Y192F | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | V147I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | K251R | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | A272S | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | N183K | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S256R | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| K27R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | N116T | G159D | R170S | N185S | A232V | Q236H | Q245R | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | S99N | G159D | N184D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261D | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N185D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N185D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212A | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | T213S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | A103V | V104I | G159D | T213E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216C | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G20A | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N173D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | K251V | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252F | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252L | | | | |
| P55S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252F | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T255V | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256N | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256E | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | L257R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | G258D | | | |
| 18V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N269D | | |
| V68A | S103A | V104I | N116S | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260E | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261D | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232S | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236R | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N18S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245V | N248D | N252K | | | | |
| V68A | N76D | S101T | S103A | V104I | G159D | T213R | N218S | A232V | Q236H | Q245R | T260A | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A228V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| T33S | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | N76D | E89D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | |
| G61E | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | S130A | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | A133S | Q137R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | |
| G61E | S103A | V104I | A133V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248G | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N218S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | S160V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S3L | G61E | V68A | N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | S167F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G97E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| A98D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| S99E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S101E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | S106E | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | Q109E | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261R | | | | |
| S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | S166D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | L217E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| G20R | N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S103A | V104I | G159D | Q206R | L217E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S103A | V104I | S130G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| K27N | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| T38G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| T38A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | E271G | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y209W | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | V205I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A230V | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | L126F | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A174V | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A194S | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | N261W | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | N261W | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| Q12R | S103A | V104I | G159D | Y209W | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| S103A | V104I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | S128L | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| A48V | S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | N261W | | | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| Q12R | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | V244T | Q245R | N248D | N252K | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | V244A | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | |
| Q12R | N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | N185D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | Q206E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | T213Q | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | N248D | N252K | | | |
| N62D | S103A | V104I | Q109R | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | S212G | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S101G | S103A | V104I | G159D | S212G | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q245R | N248D | N252K | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A230V | Q245R | | | | | | | | |
| N62D | S103A | V104I | S130G | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | S130G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | S128G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | S128L | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S101G | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | S128G | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | S128L | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260A | | | |
| S101G | S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98V | S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S99G | S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| | | | | | | | | | | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | V205I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A194P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N76D | S101G | S103A | V104I | G159D | A194P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A230V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | N185D | Q206E | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | E271Q |

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取

代，其选自除了以下表 III 的多组取代外的表 I 中的多组取代：

表 III

| | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 76 | 103 | 104 | 259 | | | | | | | |
| 76 | 86 | 103 | 104 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 130 | | | | | | | |
| 76 | 99 | 103 | 104 | 204 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 242 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 104 | 182 | 198 | | | | | |
| 21 | 76 | 103 | 104 | 182 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 119 | 137 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 173 | 222 | | | | | | |
| 61 | 76 | 103 | 104 | 222 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 116 | 159 | 170 | 185 | 232 | 236 | 245 |

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取代，其选自表 IV 中的多组取代：

表 IV

| | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 76 | 103 | 104 | 222 | 245 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 222 | 249 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | |
| 22 | 68 | 76 | 103 | 104 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 140 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 12 | 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | 261 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 130 | 222 | 245 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 224 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 211 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 214 | 232 | 236 | 245 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 20 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 259 | | |
| 68 | 76 | 87 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 261 | | | |
| 12 | 48 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 192 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 147 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 272 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 183 | 206 | 232 | 236 | 245 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 256 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 27 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 216 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |

| | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 255 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 228 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 76 | 89 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 218 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取代，其选自表 V 中的多组取代：

表 V

| | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| V68A | S103A | V104I | G159D | A228V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N218S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | N76D | E89D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260R | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T255V | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256N | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252L | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | T213S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212C | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|
| Q12R | N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | N261D | | | | | |
| N76D | S103A | I104T | S130T | M222S | Q245R | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M222S | H249R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | M222S | Q245R | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | Y192F | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | V147I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | K251R | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | A272S | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | N183K | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S256R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| K27R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | A48V | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261W | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211V | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y214L | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| G20R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S259G | | | |
| V68A | N76D | S87R | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260V | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| T22K | V68A | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T224A | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252S | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N140D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| N43S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| N43K | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |

本发明清洗组合物中有用的高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 12/76/103/104/130/170/185/222/243/245;
12/76/103/104/130/222/245/261; 12/76/103/104/130/222/245;
12/76/103/104/222/245;
61/68/103/104/159/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/236; 68/76/103/104/159/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/103/104/159/236;
68/76/103/104/159/210/232/236/245/260; 68/103/104/159/236/245;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/76/103/104/159/236/245;
68/103/104/232/236/245/257/275; 68/103/104/159/213/232/236/245;
76/103/222/245; 76/103/104/222/245;
76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/159;
76/103/104/131/159/232/236/245/248/252; 97/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
101/103/104/159/232/236/245/248/252; 102/103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/232/236/245; 103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/230/236/245; 103/104/159/236/245;
103/104/159/248/252/270; 103/104/131/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245; 和 103/104/159/232/236/245/257.

本发明清洗组合物中有用的更高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R;
12R/76D/103A/104I/222S/245R;
12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
12R/76D/103A/104T/130G/222S/245R/261D;
12R/76D/103A/104T/130G/170S/185D/222S/243D/245R;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/236H;
68A/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/236H;
68A/76D/103A/104I/159D/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;

68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
76D/103A/222S/245R;
76D/103A/104I/222S/245R;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/159D;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/230V/236H/245R;
103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/236H/245R;
103A/104I/159D/248D/252K/270V;
103A/104I/159D/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; 和
103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

本发明清洗组合物中有用的甚至更高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12/76/103/104/130/222/245/261;
 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/232/236/245;
 68/103/104/159/230/232/236/245;
 68/103/104/159/209/232/236/245;
 68/103/104/159/232/236/245/257;
 68/76/103/104/159/213/232/236/245/260;
 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/183/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
 68/103/104/159/213/232/236/245;
 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
 98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252;
 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
 102/103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/230/236/245;
 103/104/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/217/232/236/245/248/252;
 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
 103/104/131/159/232/236/245/248/252;
 103/104/159/213/232/236/245/248/252; 和
 103/104/159/232/236/245.

本发明清洗组合物中有用的最高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12R/76D/103A/104T/130T/222S/245R/261D;
 62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
 68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
 68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;

68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
 68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
 68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
 68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
 98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/230V/236H/245R;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K; 和
 103A/104I/159D/232V/236H/245R.

在另一优选的实施方案中，该蛋白酶变体是本发明清洗组合物中有用的蛋白酶，该蛋白酶变体包括在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 62、212、230、232、252 和 257 位置中的一个或多个氨基酸残基位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基。

虽然可使用以上所列的氨基酸取代的任何组合，但本发明适用的优选的蛋白酶变体包括按下列组合方式的取代、缺失或插入氨基酸残基：

(1) 一种蛋白酶变体，其包括在 62 位置和在下述 103、104、109、159、213、232、236、245、248 和 252 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代；

(2) 一种蛋白酶变体，其包括在 212 位置和在下述 12、98、102、103、104、159、232、236、245、248 和 252 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代；

(3) 一种蛋白酶变体，其包括在 230 位置和在下述 68、103、104、159、232、236 和 245 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代；

(4) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 位置和在以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(5) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 位置和在以下 103、104、236 和 245 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(6) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 和 103 位置和在以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(7) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 和 104 位置和在以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(8) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 和 236 位置和在以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(9) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232 和 245 位置和和以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(10) 一种蛋白酶变体, 其包括在 232、103、104、236 和 245 位置和和以下 12、61、62、68、76、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、205、209、210、212、213、217、230、236、245、248、252、257、260、270 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(11) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 位置和和以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(12) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 位置和和以下 103、104、236

和 245 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(13) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 和 103 位置和在以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(14) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 和 104 位置和在以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(15) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 和 236 位置和在以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(16) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252 和 245 位置和在以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(17) 一种蛋白酶变体, 其包括在 252、103、104、236 和 245 位置和在以下 12、61、62、68、97、98、101、102、103、104、109、130、131、159、183、185、210、212、213、217、232、236、245、248 和 270 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代;

(18) 一种蛋白酶变体, 其包括在 257 位置和在以下 68、103、104、205、209、210、232、236、245 和 275 位置中的一个或多个位置处的氨基酸残基的取代。

本发明清洗组合物中有用的更优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代(下表 VI 中每行一组取代):

表 VI

| | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| 76 | 103 | 104 | 212 | 271 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 252 | 261 | | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 258 | | | | | | | | |
| 4 | 76 | 103 | 104 | 159 | 217 | 252 | | | | | | |
| 12 | 62 | 76 | 103 | 104 | 159 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 268 | 271 | | | | | | | |
| 76 | 87 | 103 | 104 | 212 | 271 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 245 | 271 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 134 | 141 | 212 | 271 | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 212 | 236 | 243 | 271 | | | | | | |
| 20 | 62 | 76 | 103 | 104 | | | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 245 | | | | | | | | |
| 24 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 140 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | |
| 68 | 87 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | 275 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 116 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | | | | | |
| 10 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 203 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 237 | 245 | | | | | |
| 68 | 76 | 79 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 183 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 174 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 188 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 98 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 275 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 257 | 275 | | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 224 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 211 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 214 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 20 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 259 | | | |
| 68 | 87 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 261 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 242 | 245 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 12 | 48 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 192 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 147 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 272 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 183 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 256 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 27 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 116 | 159 | 170 | 185 | 232 | 236 | 245 | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 99 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 185 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 185 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 216 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 173 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | 252 | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 55 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 255 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 257 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 258 | | | |
| 8 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 269 | | |
| 68 | 103 | 104 | 116 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 18 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 76 | 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 218 | 232 | 236 | 245 | 260 | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 228 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 33 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 76 | 89 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | |
| 61 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 133 | 137 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | |
| 61 | 103 | 104 | 133 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 218 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 160 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 3 | 61 | 68 | 76 | 103 | 104 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 61 | 68 | 103 | 104 | 159 | 167 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 97 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 98 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 99 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 106 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 261 | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 166 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 217 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 20 | 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 206 | 217 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 27 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 38 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 38 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | 271 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 209 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 205 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 126 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 174 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | 261 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 261 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 12 | 103 | 104 | 159 | 209 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 103 | 104 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 232 | 236 | 245 | 260 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 209 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 205 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 128 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 48 | 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 48 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | 261 | | | |
| 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 12 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 102 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 184 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 244 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | |
| 12 | 62 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 185 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 102 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 98 | 102 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 109 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 212 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 101 | 103 | 104 | 159 | 212 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 245 | 248 | 252 | | | | | | |
| 103 | 104 | 159 | 230 | 245 | | | | | | | | |
| 62 | 103 | 104 | 130 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 130 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 128 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 101 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 128 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 62 | 103 | 104 | 128 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 131 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 98 | 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 99 | 101 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 205 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 230 | 236 | 245 | | | | | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 76 | 101 | 103 | 104 | 159 | 194 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 101 | 103 | 104 | 159 | 230 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 62 | 103 | 104 | 159 | 185 | 206 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 271 |

本发明清洗组合中有用的甚至更优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代(下表 VII 中每行一组取代):

表 VII

| | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| N76D | S103A | V104I | S212P | E271V | | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | N252K | N261Y | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|
| N76D | S103A | V104I | S212P | G258R | | | | | | | | |
| V4E | N76D | S103A | V104I | G159D | L217E | N252D | | | | | | |
| Q12H | N62H | N76D | S103A | V104I | G159D | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | V268F | E271V | | | | | | | |
| N76D | S87R | S103A | V104I | S212P | E271V | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | Q245L | E271V | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | T134S | S141N | S212P | E271V | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | S212P | Q236L | N243S | E271V | | | | | | |
| G20V | N62S | N76D | S103A | V104I | | | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q245R | | | | | | | | |
| S24T | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N140D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| N43S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| N43K | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| V68A | S87G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | R275S | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N116D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | | | | | |
| R10C | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V203E | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | K237E | Q245R | | | | | |
| V68A | N76D | I79N | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N183D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A174V | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S188C | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A230T | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | A98T | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215T | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | R275H | | | | |
| N76D | S103A | V104I | L257V | R275H | | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T224A | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211V | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y214L | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| G20R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S259G | | | |
| V68A | S87R | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260V | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261G | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261W | | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | S242P | Q245R | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| Q12R | A48V | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | Y192F | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| N76D | S103A | V104I | V147I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | K251R | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | A272S | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | N183K | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S256R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| K27R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | N116T | G159D | R170S | N185S | A232V | Q236H | Q245R | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | S99N | G159D | N184D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261D | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N185D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N185D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212A | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | T213S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | A103V | V104I | G159D | T213E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216C | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G20A | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N173D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | K251V | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252F | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252L | | | | |
| P55S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252F | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T255V | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256N | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256E | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | L257R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | G258D | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| I8V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N269D | | |
| V68A | S103A | V104I | N116S | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260E | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261D | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232S | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236R | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N18S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245V | N248D | N252K | | | | |
| V68A | N76D | S101T | S103A | V104I | G159D | T213R | N218S | A232V | Q236H | Q245R | T260A | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A228V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| T33S | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | N76D | E89D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | |
| G61E | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | S130A | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | A133S | Q137R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | |
| G61E | S103A | V104I | A133V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248G | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N218S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | S160V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S3L | G61E | V68A | N76D | S103A | V104I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G61E | V68A | S103A | V104I | G159D | S167F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G97E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| A98D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S99E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S101E | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | S106E | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | Q109E | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | N261R | | | | |
| S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| S103A | V104I | G159D | S166D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | L217E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| G20R | N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S103A | V104I | G159D | Q206R | L217E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S103A | V104I | S130G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| K27N | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| T38G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| T38A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | E271G | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y209W | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | V205I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A230V | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | L126F | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A174V | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A194S | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | N261W | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | N261W | | | | |
| S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| Q12R | S103A | V104I | G159D | Y209W | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| S103A | V104I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| S103A | V104I | G159D | Y209W | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | V205I | P210I | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | S128L | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| A48V | S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A48V | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | N261W | | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| Q12R | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G102A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | N184G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | V244T | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | V244A | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | |
| Q12R | N62D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | N185D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | Q206E | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | T213Q | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | G102A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| A98L | G102A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | N248D | N252K | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| N62D | S103A | V104I | Q109R | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | S212G | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S101G | S103A | V104I | G159D | S212G | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q245R | N248D | N252K | | | | | | |
| S103A | V104I | G159D | A230V | Q245R | | | | | | | | |
| N62D | S103A | V104I | S130G | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | S130G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | S128G | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | S128L | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S101G | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | S128G | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N62D | S103A | V104I | S128L | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260A | | | |
| S101G | S103A | V104I | P131V | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| A98V | S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S99G | S101G | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | P210I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | V205I | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A230V | Q236H | Q245R | | | | | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A194P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N76D | S101G | S103A | V104I | G159D | A194P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S101G | S103A | V104I | G159D | A230V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| N62D | S103A | V104I | G159D | N185D | Q206E | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | E271Q |

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取代，其选自除了以下表 VIII 的取代外的表 VI 中的多组取代：

表 VIII

| | | | | | | | | | | |
|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 68 | 76 | 103 | 104 | 116 | 159 | 170 | 185 | 232 | 236 | 245 |
|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取代，其选自表 IX 中的多组取代：

表 IX

| | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 140 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 252 | | | |
| 43 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 224 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 257 | | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 211 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 214 | 232 | 236 | 245 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 20 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 259 | | |
| 68 | 76 | 87 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 260 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 261 | | | |
| 12 | 48 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | |
| 76 | 103 | 104 | 159 | 192 | 232 | 236 | 245 | | | | |
| 76 | 103 | 104 | 147 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 251 | | |
| 12 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 272 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 183 | 206 | 232 | 236 | 245 | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 256 | | | |
| 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 206 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 27 | 68 | 76 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 109 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |

| | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 68 | 103 | 104 | 159 | 209 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 210 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 212 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 213 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 215 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 216 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 20 | 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 255 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 256 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | 260 | | |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 228 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |
| 68 | 76 | 89 | 103 | 104 | 159 | 210 | 213 | 232 | 236 | 245 | 260 |
| 68 | 103 | 104 | 159 | 218 | 232 | 236 | 245 | 248 | 252 | | |

本发明清洗组合物中有用的还甚至更优选的蛋白酶变体包括一组取代，其选自表 X 中的多组取代：

表 X

| | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| V68A | S103A | V104I | G159D | A228V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | N218S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | N76D | E89D | S103A | V104I | G159D | P210L | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256R | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T260R | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | T255V | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | S256N | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252L | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216T | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S216V | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | T213S | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|
| V68A | S103A | V104I | G159D | P210L | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212C | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212G | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209W | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | Q109R | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| G20R | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | Y209F | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | Y192F | A232V | Q236H | Q245R | | | | |
| N76D | S103A | V104I | V147I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248S | K251R | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | A272S | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | N183K | Q206L | A232V | Q236H | Q245R | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S256R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Q206R | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| K27R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| Q12R | A48V | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N261W | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211R | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | G211V | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | Y214L | A232V | Q236H | Q245R | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A215R | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| Q12R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| G20R | V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | S259G | | |
| V68A | N76D | S87R | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | T260V | | |
| N76D | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | T213R | A232V | Q236H | Q245R | T260A | | |
| V68A | N76D | S103A | V104I | G159D | P210R | A232V | Q236H | Q245R | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | S212P | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | T224A | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252S | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N248D | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | | |
| V68A | S103A | V104I | N140D | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | |
| N43S | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | |
| N43K | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|--|--|
| N43D | V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | N252K | | | |
| V68A | S103A | V104I | G159D | A232V | Q236H | Q245R | L257V | | | | |

本发明清洗组合物中有用的高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 61/68/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/103/104/130/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
62/103/104/109/159/213/232/236/245/248/252; 62/103/104/159/232/236/245/248/252;
62/101/103/104/159/212/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252/270;
68/103/104/159/185/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/210/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/185/210/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/230/232/236/245; 68/76/103/104/159/209/232/236/245;
68/103/104/232/236/245/248/257/275; 68/103/104/213/232/236/245/248/252;
68/103/104/159/232/236/245/248/252; 68/103/104/159/209/232/236/245;
68/76/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/252;
68/103/104/159/232/236/245; 68/103/104/159/232/236/245/257;
68/76/103/104/159/211/232/236/245; 68/76/103/104/159/215/232/236/245;
68/103/104/159/210/232/236/245; 68/103/104/159/213/232/236/245/260;
68/76/103/104/159/213/232/236/245/260; 68/76/103/104/159/210/232/236/245/260;
68/103/104/159/183/232/236/245/248/252; 68/103/104/232/236/245/257/275;
68/103/104/159/213/232/236/245; 76/103/104/159/232/236/245;
76/103/104/159/213/232/236/245/260; 76/103/104/131/159/232/236/245/248/252;
97/103/104/159/232/236/245/248/252; 98/103/104/159/232/236/245/248/252;
98/102/103/104/159/212/232/236/245/248/252; 101/103/104/159/232/236/245/248/252;
102/103/104/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/232/236/245;
103/104/159/248/252/270; 103/104/159/232/236/245/248/252;
103/104/159/205/209/232/236/245/257 103/104/159/232/245/248/252;
103/104/159/205/209/210/232/236/245/257; 103/104/159/213/232/236/245/248/252;
103/104/159/217/232/236/245/248/252; 103/104/130/159/232/236/245/248/252;
103/104/131/159/232/236/245/248/252; 103/104/159/205/209/232/236/245; 和
103/104/159/232/236/245/257.

本发明清洗组合物中有用的更高度优选的蛋白酶变体包括选自以下的一组取代:

12R/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
61E/68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/109R/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/103A/104I/130G/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
62D/101G/103A/104I/159D/212G/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R/260A;
68A/103A/104I/159D/183D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/211R/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/215R/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
68A/76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
68A/103A/104I/159D/185D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/185D/210L/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/230V/232V/236H/245R;
68A/76D/103A/104I/159D/209W/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/248D/257V/275H;
68A/103A/104I/232V/236H/245R/257V/275H;
68A/103A/104I/213E/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
68A/103A/104I/159D/210I/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/210L/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/213G/232V/236H/245R;
68A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K/270A;
76D/103A/104I/159D/232V/236H/245R;
76D/103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
76D/103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/260A;
97E/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
98L/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;

98L/102A/103A/104I/159D/212G/232V/236H/245R/248D/252K;
 101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 102A/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/213R/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/130G/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/217E/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/248D/252K/270V;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R;
 103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R;
 103A/104I/159D/232V/236H/245R/257V;
 103A/104I/159D/205I/209W/232V/236H/245R/257V;
 103A/104I/131V/159D/232V/236H/245R/248D/252K;
 103A/104I/159D/205I/209W/210I/232V/236H/245R/257V; 和
 103A/104I/159D/232V/245R/248D/252K.

重组蛋白酶/重组枯草溶菌素-“重组蛋白酶”或“重组枯草溶菌素”是指其中分别编码天然产生的蛋白酶或枯草溶菌素的 DNA 序列被修饰产生突变 DNA 序列的蛋白酶或枯草溶菌素，所述突变 DNA 序列编码了蛋白酶或枯草溶菌素氨基酸序列中的一个或多个氨基酸的取代、插入或缺失。适合的修饰方法公开在本文和美国专利 RE34606, US5204015 和 5185258 中。

非人体蛋白酶/非人体枯草溶菌素-“非人体蛋白酶”或“非人体枯草溶菌素”和编码它们的 DNA 可由许多原核生物和真核生物得到。原核生物的适合实例包括革兰氏阴性生物例如大肠杆菌或假单胞菌和革兰氏阳性细菌例如微球菌或芽孢杆菌。可由其得到羧基水解酶和它们的基因的真核生物的实例包括酵母例如啤酒糖酵母，真菌例如曲霉属和非人类的哺乳动物源例如牛物种，由其可得到编码蛋白凝乳酶或枯草溶菌素凝乳酶的基因。可从各种相关的物种得到一系列蛋白酶和/或枯草溶菌素，该系列物种之间具有不完全同源的氨基酸序列，但尽管如此仍表现出相同或相似类型的生物活性。因此，本文使用的非人体蛋白酶或非人体枯草溶菌素具有一种功能定义，其分别称为蛋白酶或枯草溶菌素，其直接或间接与原核和真核生物源相关。

变异的 DNA 序列-编码这种蛋白酶或枯草溶菌素变体的变异的 DNA

序列是由编码天然产生的或重组前体酶的前体 DNA 序列衍生得到。

在本发明优选的实施方案中，变异的 DNA 序列是由修饰前体 DNA 序列衍生得到，其编码了由前体 DNA 序列编码的对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 103 位置的一个或多个特定氨基酸残基的取代、插入或缺失，同时结合淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的以下 1、3、4、8、9、10、12、13、16、17、18、19、20、21、22、24、27、33、37、38、42、43、48、55、57、58、61、62、68、72、75、76、77、78、79、86、87、89、97、98、99、101、102、104、106、107、109、111、114、116、117、119、121、123、126、128、130、131、133、134、137、140、141、142、146、147、158、159、160、166、167、170、173、174、177、181、182、183、184、185、188、192、194、198、203、204、205、206、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、222、224、227、228、230、232、236、237、238、240、242、243、244、245、246、247、248、249、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、265、268、269、270、271、272、274 和 275 位置处的一个或多个氨基酸残基的取代、插入或缺失；其中当所述蛋白酶变体包括在对应于 103 和 76 位置处的氨基酸残基的取代时，还存在在非对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 位的氨基酸残基位置处的一个或多个氨基酸残基位置处的氨基酸残基的取代。更优选，这些变异 DNA 序列编码本文描述的蛋白酶变体。

在另一优选的实施方案中，这些变异的 DNA 序列编码了对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 62、212、230、232、252 和 257 位置的一个或多个氨基酸残基的取代、插入或缺失。更优选这些变异的 DNA 序列编码了本文描述的蛋白酶变体。

尽管在本文确认用于修饰的氨基酸残基是根据淀粉分解芽孢杆菌应用的编号来确定（其已成为确定在所有枯草溶菌素中的残基位置的常规方法），但本发明适用的优选的前体 DNA 序列是如图 3 中所示的缓慢芽孢杆菌的 DNA 序列。

这些重组 DNA 序列编码了具有新氨基酸序列的蛋白酶变体，并且一般至少有一种性质显著地不同于由前体蛋白酶 DNA 序列编码的酶的同一种性质。这种性质包括蛋白水解活性、基质特异性、稳定性、变化的 pH

范围和/或增强的性能特征。

本文描述了对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 103 位置的特定取代, 同时结合以下 1、3、4、8、9、10、12、13、16、17、18、19、20、21、22、24、27、33、37、38、42、43、48、55、57、58、61、62、68、72、75、76、77、78、79、86、87、89、97、98、99、101、102、104、106、107、109、111、114、116、117、119、121、123、126、128、130、131、133、134、137、140、141、142、146、147、158、159、160、166、167、170、173、174、177、181、182、183、184、185、188、192、194、198、203、204、205、206、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、222、224、227、228、230、232、236、237、238、240、242、243、244、245、246、247、248、249、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、265、268、269、270、271、272、274 和 275 位置中的一个或多个位置的取代; 其中当所述蛋白酶变体包括在对应于 103 和 76 位置处的氨基酸残基的取代时, 还存在非对应于 27、99、101、104、107、109、123、128、166、204、206、210、216、217、218、222、260、265 或 274 位的氨基酸残基位置处的一个或多个氨基酸残基位置处的氨基酸残基的取代, 其中编号的位置对应于来自淀粉分解芽孢杆菌的天然产生的枯草溶菌素或对应于在其他羧基水解酶或枯草溶菌素(例如缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素)中的相当氨基酸残基。另外, 本文描述了对应于以下 62、212、230、232、252 和 257 位置中的一个或多个位置的特定取代, 其中编号的位置对应于来自淀粉分解芽孢杆菌的天然产生的枯草溶菌素或对应于在其他羧基水解酶或枯草溶菌素(例如缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素)中的相当氨基酸残基。这些氨基酸位置编号是指编排在图 1 中表示的成熟淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素序列的那些。然而, 本发明不限于使用该特定枯草溶菌素的突变, 而是延伸到在“相当于”淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素中特别确定的残基位置处含有氨基酸残基的前体蛋白酶。在本发明优选的实施方案中, 前体蛋白酶是缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素和在缓慢芽孢杆菌中对应于以上所列的那些相当氨基酸残基处进行取代、缺失或插入。

若是同源的(即对应于一级或三级结构中的位置)或类似于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素中的特定残基或部分特定残基(即在化学上具有相同或相似的结合、反应或相互作用的功能), 则前体蛋白酶的残基(氨

基酸)相当于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的残基。

为了确定与一级结构的同源性,直接将前体蛋白酶的氨基酸序列与淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的一级序列相比,特别是与已知序列的枯草溶菌素中不变的一组已知残基相比。例如,本文图2说明了在淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素和缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素之间保守的残基。在排列保守残基后,允许必要的插入和缺失以保持排列(即避免通过任意的缺失和插入而消除保守残基),确定与淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的一级序列中的特定氨基酸相当的残基。保守残基的排列优选应当保守100%这种残基。然而,有大于75%或少至50%被保守残基的排列也足以确定相当残基。应当维持催化三分体,Asp32/His64/Ser221的保守。

例如,在图3中,排列从淀粉分解芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、地衣形芽孢杆菌(*carlsbergensis*)和缓慢芽孢杆菌得到的枯草溶菌素的氨基酸序列以提供在氨基酸序列间最大量的同源性。这些序列的比较表明存在许多含在各序列中的保守残基。在图2中确定了这些保守残基(如BPN'和缓慢芽孢杆菌之间)。

因此这些保守残基可用于确定相应的缓慢芽孢杆菌的相当氨基酸残基(PCT公开号W089/06279,1989年7月13日公布)、本发明优选的蛋白酶前体酶或称为PB92的枯草溶菌素(EPO328299),其与优选的缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素高度同源。这些中的一些枯草溶菌素的氨基酸序列被排列在图3A和3B中,其中列出了产生保守残基的最大同源性的淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的序列。可以看出,与淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素相比,在缓慢芽孢杆菌序列中存在许多缺失。因此,例如在其他枯草溶菌素中与淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素中的Val 165相当的氨基酸,对于缓慢芽孢杆菌和地衣形芽孢杆菌是异亮氨酸。因此,例如在淀粉分解芽孢杆菌和缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素中的+76位置的氨基酸是天冬酰胺(N)。然而,在本发明蛋白酶变体中,相当于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的+76位置的氨基酸被天冬氨酸(D)取代。本发明中所有氨基酸的缩写和一种字母编号符合Patentin使用手册(GenBank, Mountain View, CA), 1990, 第101页。

也可通过测定前体蛋白酶的三级结构水平的同源性来确定“相当残基”,前体蛋白酶的三级结构是通过X-射线晶体学来测定。相当残基被定义为以下的那些:前体蛋白酶和淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的特定

氨基酸残基的两个或多个主链原子的原子坐标 (N 对 N, CA 对 CA, C 对 C 和 O 对 O) 在排列之后是在 0.13nm 内, 优选 0.1nm 内。在最好的模型被定位和放置得到最大覆盖关于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的蛋白酶的非氢蛋白质原子的原子坐标后之后, 才获得排列。最好的模型是晶体学模型, 其在可得到的最高分辨率下给出了实验衍射数据的最低 R 因子:

$$R \text{ 因子} = \frac{\sum_h |F_o(h)| - |F_c(h)|}{\sum_h |F_o(h)|}$$

功能类似于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的特定残基的相当残基被定义为那些下述的前体蛋白酶的氨基酸: 其可采取一定的构型使得它们改变、改善或有助于蛋白质的结构、结合基质或催化, 这是以一种确认的方式和归结于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的特定残基的原因。另外, 它们是占据类似位置至一定程度的前体蛋白酶的那些残基 (已由 X-射线晶体学得到三级结构), 使得按占据同源位置为基础计, 虽然给定残基的主链原子可能不满足等价标准, 但该残基的至少两个侧链原子的原子坐标落在淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的相应侧链原子的 0.13nm 内。淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的三维结构的坐标在 EPO 公开号 0251446 (等同于美国专利 5182204, 其公开内容在本文引用作参考) 中给出并可按以上概述用于测定在三级结构水平上的相当残基。

确认用于取代、插入或缺失的一些残基是保守残基, 而其他的不是。在残基不被保守的情况下, 取代一个或多个氨基酸是受限于这样的取代: 其产生的变体的氨基酸序列不对应于自然界中发现的一种。在保守残基的情况下, 这种取代不应当导致天然产生的序列。本发明蛋白酶变体包括成熟的蛋白酶变体形式以及这种蛋白酶变体的原体和前体形式。该前体形式是优选的结构, 因为这有助于蛋白酶变体的表达、分泌和成熟。

“原序列”指的是与成熟形式的蛋白酶的 N-端部分相连的氨基酸序列, 当其除去时, 得到了“成熟”形式的蛋白酶状态。在自然界中发现许多蛋白水解酶为翻译酶原产品, 在不存在后翻译加工下, 其按此方式表达。产生蛋白酶变体的优选原序列是淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的推定的原序列, 但可使用其他的蛋白酶原序列。

“信号序列”或“前序列”指的是与蛋白酶的 N'端部分或蛋白酶原的 N-端部分相连的任何氨基酸序列，其可参与成熟或原体形式的蛋白酶的分泌。信号序列的此定义是一种功能性的定义，意思是包括由蛋白酶基因的 N-端部分编码的所有那些氨基酸序列，其参与在自然条件下的蛋白酶分泌的实施。本发明使用这种序列以实现本文定义的蛋白酶变体的分泌。一种可能的信号序列包括来自枯草芽孢杆菌枯草溶菌素的信号序列的头七个氨基酸残基并合到来自缓慢芽孢杆菌（ATCC21536）的枯草溶菌素的信号序列的其余部分上。

“前体”形式的蛋白酶变体由成熟形式的蛋白酶组成，该成熟形式的蛋白酶具有与蛋白酶的氨基端可操作连接的原序列和与该原序列的氨基端可操作连接的“前”或“信号”序列。

“表达载体”指的是含有可操作连接适合的控制序列的 DNA 序列的 DNA 构建物，所述控制序列能够实现所述 DNA 在适合宿主中的表达。这种控制序列包括实现转录的启动子、控制这种转录的选择性的操纵基因序列、编码适合的控制转录和翻译的 mRNA 核糖体结合部位和序列。该载体可以是质粒、噬菌粒或简单潜在的基因组插入片段。一旦转化至适合的宿主中，该载体可独立地复制和起作用或宿主基因组在某些情况下可整合到基因组本身中。在本说明书中，“质粒”和“载体”有时相互交换使用，因为质粒是目前最通常使用的载体形式。然而，本发明预期包括这种其他形式的表达载体，其具有等价的功能并是或成为现有技术中已知的。

本发明使用的“宿主细胞”一般是原核生物或真核生物宿主，其优选美国专利 RE34606 中公开的方法控制使用，以使它们不能酶催分泌活性的内切蛋白酶。表达蛋白酶的优选的宿主细胞是芽孢杆菌属菌株 BG2036，在酶催活性的中性蛋白酶和碱性蛋白酶（枯草溶菌素）中其是缺损的。菌株 BG2036 的构建详细地描述在美国专利 5264366 中。表达蛋白酶的其他宿主细胞包括枯草芽孢杆菌 168（还描述在美国专利 RE34606 和美国专利 5264366 中，其公开内容在本文引用作参考）以及任何适合的芽孢杆菌菌株例如地衣形芽孢杆菌、缓慢芽孢杆菌等。

用重组 DNA 技术构建的载体转化或转染宿主细胞。这种被转化的宿主细胞能够复制编码蛋白酶变体或表达所需的蛋白酶变体的载体。在编码前体形式的蛋白酶变体的载体的情况下，这种变体当被表达时一般是

从宿主细胞分泌到宿主细胞介质中。

当描述两个 DNA 区之间的关系时，“可操作连接”简单地意思是它们彼此间功能相关。例如，原序列如果作为一种信号序列的话与肽可操作连接，参与成熟形式的蛋白酶的分泌，多半可能包括信号序列的断开。启动子如果控制编码序列的转录的话，其与编码序列可操作连接，核糖体结合部位如果其处的位置允许翻译的话，其与编码序列可操作连接。

根据本领域技术人员已知的一般方法可得到编码天然产生的前体蛋白酶的基因。该方法一般包括合成标记的探针，其具有编码感兴趣的蛋白酶区域的推定的序列，从表达蛋白酶的有机体制备基因组文库，通过与探针杂交筛分该文库得到感兴趣的基因。然后绘制和排序正杂交克隆。

克隆的蛋白酶然后用于转化宿主细胞，以便表达该蛋白酶。该蛋白酶基因然后被连接入高拷贝数目的质粒中。该质粒在宿主中复制，在这种意义上其含有质粒复制必要的公知要素：一种与所述的基因可操作连接的启动子（其可作为该基因自身同源的启动子提供，如果其被确认，即由宿主转换的话），转录终止和聚腺苷酸化区域（对由宿主从某些真核宿主细胞中的蛋白酶基因转换的 mRNA 的稳定性是必要的）其是外源的或由蛋白酶基因的内源终止区提供，最好选择基因例如抗生素抗性基因通过在含抗生素的介质中生长能够连续地培养维持质粒感染的宿主细胞。高拷贝数目的质粒还含有宿主的复制源，由此使得多数质粒在细胞质中生殖而不受染色体的限制。然而，在本发明范围内是将多次将蛋白酶基因拷贝整合到宿主基因组中。这被原核生物和真核生物促进，它们对同源重组特别敏感。该基因可以是天然的缓慢芽孢杆菌基因。另外，可生产编码天然产生的或突变前体蛋白酶的合成基因。在这种方法中，确定了前体蛋白酶的 DNA 和/或氨基酸序列。在下文合成了多重重叠合成的单链 DNA 片段，其经杂交和连接产生编码前体蛋白酶的合成 DNA。合成基因构建的实例在美国专利 5204105 的实施例 3 中列出，其公开内容在本文引用作参考。

一旦天然产生或合成前体蛋白酶基因被克隆，就进行多种修饰以增加不能合成天然产生的前体蛋白酶的基因的使用。这种修饰包括生产重组蛋白酶如美国专利 RE34606 和 EPO 公开号 0251446 中所述和生产本文描述的蛋白酶变体。

可使用以下盒式诱变方法来促进本发明蛋白酶变体的构建，但也可使用其他方法。首先，得到编码蛋白酶的天然产生的基因，其是完整的或部分序列。然后在该序列中寻找一理想的点，以在被编码的酶中对一个或多个氨基酸进行突变（缺失、插入或取代）。在有用寡核苷酸库替代短基因碎片的限制部位存在下，评价旁侧所述点位的序列，所述寡核苷酸库当被表达时将编码各种突变体。这种限制部位优选是在蛋白酶基因中的独特部位，以便促使基因碎片的替代。然而，可使用在蛋白酶基因中不过分多余的任何适宜限制部位，条件是由限制消化产生的基因碎片可以适当的序列重装配。如果在离所选择的点的适宜距离（从10-15个核苷酸）内的位置处不存在限制部位，则以一定的方式通过取代基因中的核苷酸而产生这种部位，所述方式是使得读框或编码的氨基酸在最终结构中都不改变。为改变其序列以符合所要求序列的基因突变是根据一般公知的方法由M13引子扩展完成。确定适合的旁侧区域和评价达到两种适宜的限制部位序列所需的变化，这两方面工作通常是由多余的遗传密码、基因的限制酶图和大量的不同限制性酶来完成。注意到若适宜的旁侧限制部位可得到，以上方法的使用仅与不含所述部位的旁侧区域有关。

一旦天然产生的DNA或合成DNA被克隆，旁侧被突变的位置的限制部位就用相关限制性酶消化并且多个末端互补的寡核苷酸盒被连接到基因中。通过该方法简化了诱变，因为可合成所有的寡核苷酸，以便具有相同的限制部位，和不需要合成连接物来产生限制部位。这里使用的蛋白水解活性被定义为每毫克活性酶的肽键水解速率。存在测定蛋白水解活性的许多公知方法（K. M. Kalisz, “微生物蛋白酶”，高等生物化学工程/生物技术 A. Fiechter 等, 1988）。除此之外或作为改性的蛋白水解活性的替代，本发明变异体酶具有许多其他的改性性质例如 K_m , k_{cat} , k_{cat}/K_m 比例和/或具体改性的基质和/或改性的pH活性范围。这些酶可适合特定的基质，所述基质例如在制备肽中或对于水解过程例如洗衣应用中是预期存在的。

本发明的一方面，目的是保证变体蛋白酶具有与前体蛋白酶相比改变的蛋白水解活性，由于增加了这种活性（数值上较大）能够使酶更有效地作用于目标基质。还有利的是与前体相比具有改变的热稳定性和/或改变的基质特异性的变异体酶。在一些情况下，较低的蛋白水解活性

可能是理想的, 例如当蛋白酶的合成活性是理想时, 蛋白水解活性的降低是有用的(如用于合成肽)。一种情况可能希望降低此蛋白水解活性, 其能够破坏这种合成的产品。相反, 在一些情况下, 可能需要增加变体酶相对其前体的蛋白水解活性。此外, 可能需要增加或降低(改变)变异体的稳定性, 无论是碱性或热稳定性。 K_m , k_{cat} , 或 k_{cat}/K_m 的增加或降低对用于测定这些动力学参数的基质是特定的。

本发明的另一方面, 已确定在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的 103 位置的取代, 同时结合以下 1、3、4、8、9、10、12、13、16、17、18、19、20、21、22、24、27、33、37、38、42、43、48、55、57、58、61、62、68、72、75、76、77、78、79、86、87、89、97、98、99、101、102、104、106、107、109、111、114、116、117、119、121、123、126、128、130、131、133、134、137、140、141、142、146、147、158、159、160、166、167、170、173、174、177、181、182、183、184、185、188、192、194、198、203、204、205、206、209、210、211、212、213、214、215、216、217、218、222、224、227、228、230、232、236、237、238、240、242、243、244、245、246、247、248、249、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、265、268、269、270、271、272、274 和 275 位置中的一个或多个位置的取代对调整酶的总稳定性和/或蛋白水解活性是重要的。

本发明的另一方面, 已确定在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的以下 62、212、230、232、252 和 257 位中的一个或多个位置处的取代对调整酶的总稳定性和/或蛋白水解活性也是重要的。

这些取代优选在缓慢芽孢杆菌(重组或天然类型的)枯草溶菌素中进行, 尽管在任何芽孢杆菌蛋白酶中也可以进行取代。

根据变体蛋白酶得到的筛分结果, 注意到在淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素中的突变对于这些酶的蛋白水解活性、性能和/或稳定性和对这种变体酶的清洗或洗涤性能都是重要的。

制备本发明洗涤剂 and 漂白组合中使用的酶的方法和步骤是已知的并披露在 PCT 申请号 W095/10615 中。

本发明酶具有似胰蛋白酶的特异性, 即本发明酶水解蛋白质是通过优先断开带电荷的氨基酸残基的肽键, 更具体地是例如精氨酸和赖氨酸的残基, 而不优先断开疏水氨基酸残基的肽键, 更具体地是苯基丙氨酸、

色氨酸和酪氨酸。具有后者情况的酶具有似胰凝乳蛋白酶的特异性。以上所述的基质特异性由酶对两种合成基质的作用来说明。具有似胰蛋白酶特异性的蛋白酶要优先于合成基质 sucAAPF-pNA 水解合成基质 bVGR-pNA。相反，似胰凝乳蛋白酶的蛋白酶水解前者要比后者更快。对于本发明目的而言，使用以下方法定义本发明蛋白酶的似胰蛋白酶的特异性。

将 pH 为 10 和在温度 25℃ 下的固定量的甘氨酸缓冲液加入标准 10ml 试管中。将要测试的 0.5ppm 活性酶加入该试管中。将每 ml 缓冲溶液大约 1.25mg 合成基质加入试管中。使该混合物在 25℃ 下培养 15 分钟。培养阶段完成时，向混合物中以每 ml 缓冲液 0.5mg 量加入酶抑制剂，PMSF。在 410nm 波长处读取混合物的吸光度或 OD 值。该吸光度则表示酶对合成基质的活性。吸光度越大，对基质的活性水平越高。

为了测定各酶的特异性，可将两种合成基质蛋白质的吸光度转化成特异性比值。对于本发明目的，由下式确定特异性比值：

$$\frac{[\text{对 sAAPF-pNA 的活性}]}{[\text{对 bVGR-pNA 的活性}]}$$

则具有比值低于约 10，更优选低于约 5，最优选低于约 2.5 的酶被认为证明有似胰蛋白酶的活性。

这种变体一般具有至少一种性质不同于得到变体的氨基酸序列的蛋白酶前体的同一种性质。

本发明的一方面是用于处理织物、器皿、餐具、厨具、炊具和其他硬表面底物的组合物，例如洗涤剂 and 漂白组合物，其包括一种或多种本发明的变体蛋白酶。含蛋白酶的组合物可用于处理例如丝绸或羊毛以及其他类型的织物，如公开文献例如 RD216034，EP134267，US4533359 和 EP344259 中所述；和处理器皿、餐具、厨具、炊具和其他硬表面底物如公开文献例如美国专利 5478742，US5346822，US5679630 和 US5677272 中所述。

II. 漂白剂-本发明漂白组合物含有漂白剂，其优选占该组合物的约 0.5%-20%重量。漂白剂基本上是不溶性的，优选是固体的有机过氧酸，或包含漂白活化剂和能够产生过氧化氢的过氧漂白化合物的漂白体系或这两者的组合。组合物中的过酸或由活化剂和过氧化物形成的过酸优选是具有亲水-亲油平衡（“H. L. B”）值为约 3-6.5 的相应羧酸。因此，可用于表征本发明适用的优选过氧酸（由活化剂得到或作为预制的过氧

酸)的方法是“H. L. B标准”,例如其描述在Davies, J. T. Proc 2nd Internat. Congr. Surface Activity 1, 426, Butterworths, 伦敦(1957), 其在本文引用作参考。在研究表面活性剂中已使用这种 H. L. B 标准(亲水-亲油平衡)作为关于表面活性剂在亲水(似水)和亲油(似油)相之间分布的一种量度。以这种方式,可使用 H. L. B 值表示活性漂白物在洗涤中的亲油(疏水)特征(即过氧酸从洗涤水溶液中分配出和在油/织物界面上浓缩的能力)。

在下表 A 中列出了被选择的过氧酸(为相应的羧酸)的计算 H. L. B 值。用于计算 H. L. B 值的等式可列为:

$$HLB = (\text{亲水基团数目}) \text{的总和} - (\text{疏水基团数目}) \text{的总和} + 7$$

亲水基团数目值是 $[-C(O)OH \& -N(H)C(O)-=2.1]$ 和疏水基团数目值是 $[\text{脂族/芳族碳}=0.475 \& \text{极性基团间的脂族碳原子是烃链中的脂族碳原子值的 } 1/2 = (0.475)/2]$ 。作为参照, H. L. B 值 >7 表示该物质优选是水溶性的, H. L. B 值 <7 表示增加了表面活性和疏水性。

表 A

各种过氧酸的 H. L. B 值

| 活化剂/预制的过氧酸 | 缩写 | 过氧酸 | 相应羧酸的 H. L. B |
|------------|-------|--|---------------|
| 四乙酰乙二胺 | TAED | $CH_3C(O)OOH$ | 8.6 |
| 二过氧十二烷二酸 | DPDDA | $HOO(O)C(CH_2)_{10}C(O)OOH$ | 6.5 |
| 过氧琥珀酸壬酰胺 | NAPSA | $CH_3(CH_2)_8N(H)-C(O)(CH_2)_2C(O)OOH$ | 6.4 |
| 苯甲酰氧基苯磺酸盐 | BOBS | $C_6H_5C(O)OOH$ | 6.3 |
| 过氧己二酸壬酰胺 | NAPAA | $CH_3(CH_2)_8N(H)C(O)(CH_2)_4C(O)OOH$ | 6.0 |
| 壬酰基氧苯磺酸盐 | NOBS | $CH_3(CH_2)_7C(O)OOH$ | 5.3 |
| 癸酰基氧苯磺酸盐 | DOBS | $CH_3(CH_2)_9C(O)OOH$ | 4.8 |
| 过月桂酸 | PLA | $CH_3(CH_2)_{10}C(O)OOH$ | 3.9 |

如上述,本发明过氧酸(无论是直接添加或就地产生的)(相应羧酸)的 H. L. B 值的优选范围是约 3.0-6.5。用于本发明的过氧酸(无论是直接添加或就地产生的)(作为羧酸)的 H. L. B 值的更优选范围是约 4.0-6.5。本发明过氧酸(无论是直接添加或就地产生的)(作为羧酸)的 H. L. B 值的最优选范围是约 4.0-6.0。

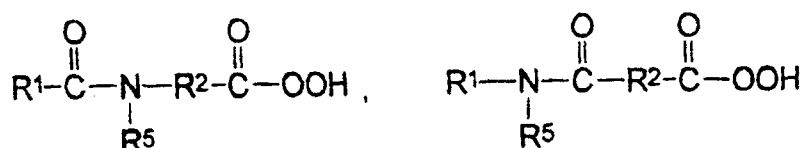
(a) 过氧酸

本发明涉及包含有效量的蛋白酶和漂白体系的洗涤剂组合物,所述

漂白体系包含至少约 0.1%，优选约 0.1%-50%重量基本上不溶的有机过氧酸。本发明有用的过氧酸优选占该组合物重量的约 0.5%-20%，更优选约 1%-10%，最优选约 2%-7%。

优选的有机过氧酸选自 4-壬基氨基-4-氧代过氧丁酸；6-(壬基氨基)-6-氧代过氧己酸；1,12-二过氧十二烷二酸；庚基磺酰基过丙酸；癸基磺酰基过丙酸；和庚基-，辛基-，壬基-，癸基磺酰基过丁酸和其混合物。

有机过氧酸中，酰氨基过氧酸（酰胺取代的过氧羧酸）是优选的。用于本发明适合的酰氨基过氧酸描述在分别于 1987 年 1 月 6 日和 1987 年 8 月 11 日授权的 Burns 等的美国专利 4634551 和 4686063 中，这两篇专利在本文引用作参考。适合的酰氨基过氧酸具有式：



其中， R^1 为含有约 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基（优选 R^1 是含有约 6-12 个碳原子的烷基）， R^2 为含有约 1-14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基（优选 R^2 是含有约 1-6 个碳原子的亚烷基）， R^5 为 H 或含有约 1-10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基（优选 R^5 是 H）。更优选 R^1 是含有约 8-10 个碳原子的烷基， R^2 是含有约 2-4 个碳原子的亚烷基。

另一种优选的预制过酸包括 E-苯二甲酰亚氨基-过氧己酸（“PAP”）。参见例如美国专利 5487818, 5310934, 5246620, 5279757 和 5132431。

其他适合的过氧己酸包括，但不限于：N,N'-对苯二甲酰-二-(6-氨基-过氧己酸)（“TPCAP”）和描述在美国专利 5770551 中的那些。此外，N-壬酰基-6-氨基过氧己酸（“NAPCA”）也可用作过酸。参见美国专利 5523434, 4634551 和 4852989。

还适用于本发明的是过氧富马酸盐，其描述在 1989 年 8 月 1 日授权的 Burns 等的美国专利 4852989，其在本文引用作参考，和砷过氧酸（砷过氧羧酸），其描述在分别于 1988 年 7 月 19 日、1989 年 4 月 25 日和 1991 年 4 月 2 日授权的 Dryoff 等的美国专利 4758369, 4824591 和 5004558 中，其都在本文引用作参考。

美国专利 4686063 的实施例 I 含有合成 NAPSA 的一种描述, 从第 8 栏第 40 行至第 9 栏第 5 行, 和 NAPAA, 从第 9 栏第 15 行至第 9 栏第 65 行。在酰氨基过氧酸的合成结尾, 反应用水急冷, 过滤, 用水洗涤除去一些过量的硫酸 (或制备过氧酸的其他强酸) 并再过滤。

根据 1990 年 3 月 20 日授权的 Sadlowski 等的美国专利 4909953 (其在本文引用作参考), 将由此得到的酰氨基过氧酸湿饼与 pH 约 3.5-6, 优选约 4-5 的磷酸盐缓冲液接触。

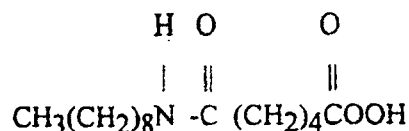
用于使储存稳定或控制放热的其他试剂在酰氨基过氧酸掺入最终产品中之前可加入其中。例如, 硼酸, 在 1987 年 8 月 11 日授权并在本文引用的 Burns 的美国专利 4686063 中公开的放热控制试剂可按过酸: 硼酸约 2:1 比例与酰氨基过氧酸 (已用磷酸盐缓冲液洗涤过) 混合。磷酸盐缓冲液洗涤过的酰氨基过氧酸也可与适当量的吡啶二甲酸和焦磷酸四钠、螯合稳定体系混合。在与湿饼接触之前, 螯合剂可任选地包括在磷酸盐缓冲液中。

湿饼优选由平均颗粒直径为约 0.1-260 微米, 优选约 10-100 微米, 最优选约 30-60 微米的颗粒构成。小颗粒尺寸的 NAPAA 晶体是本发明希望的。参见 1991 年 10 月 8 日授权的 Getty 等的美国专利 5055218, 其在本文引用作参考。

这里的 NAPAA 过滤饼优选用磷酸盐缓冲液洗涤两次。发现两次连续的磷酸盐缓冲液洗涤使 NAPAA 有最好的稳定性。

理论 AvO (有效氧) 在约 3-12, 最优选 5-7 的颗粒 (固体) 有机过氧酸是优选的。

用于本发明最优选的是 NAPAA。过氧己二酸的壬酰胺 ("NAPAA") 的另一种名称是 6-(壬基氨基)-6-氧代过氧己酸。NAPAA 的化学式是:



NAPAA 的分子量为 287.4。

含有 NAPAA 的洗涤剂组合物和漂白组合物提供了对织物极有效的表面漂白。从织物上去除了污渍和/或污垢。这些组合物对从织物上去除

污秽污垢特别有效。

NAPAA 极性酰胺或取代的酰胺部分导致过氧酸具有非常低的蒸汽压并由此具有低气味以及优异的漂白性能。相信酰胺基团的极性导致过氧酸的蒸汽压降低和提高了熔点。

NAPAA 可直接用作漂白剂。其在洗衣应用中具有降低的蒸汽压和良好的气味。

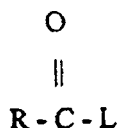
NAPAA 可通过例如首先将 NAAA (己二酸的单烷基酰胺)、硫酸和过氧化氢反应来制备。反应产物通过加入冰水中被急冷, 然后过滤, 用蒸馏水洗涤, 最后空吸过滤回收湿饼。继续洗涤直至滤液的 pH 为中性。

还优选 NAPAA 的 pH (在水 10% 固体) 在约 4.2-4.8 之间。令人吃惊地, 该 pH 导致热稳定更好的颗粒。

(b) 漂白体系-漂白活化剂和过氧漂白化合物

(I) 漂白活化剂

用于本发明的漂白体系中的漂白活化剂优选具有以下结构:

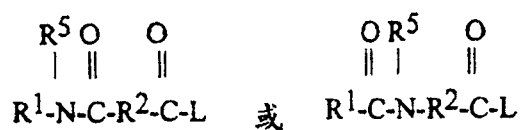


其中 R 是含有约 5-18 个碳原子的烷基, 其中从羰基碳延伸的和包括羰基碳的最长的直链烷基含有约 6-10 个碳原子, L 是离去基团, 其共轭酸的 pKa 为约 4-13, 优选约 6-11, 最优选约 8-11。

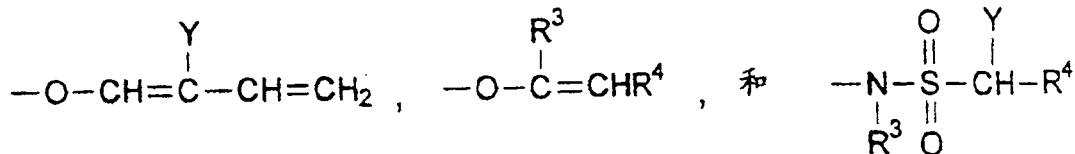
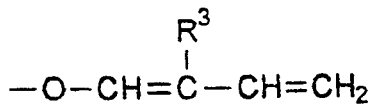
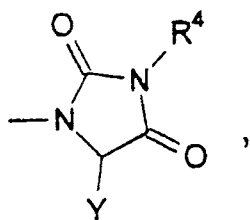
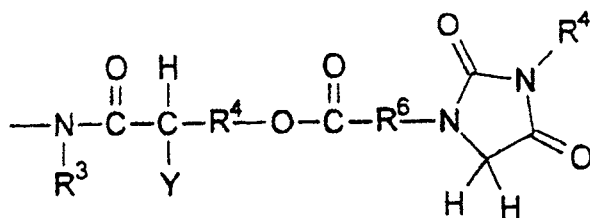
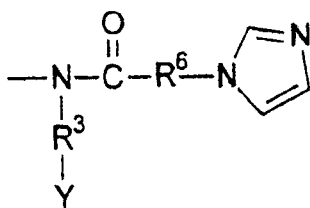
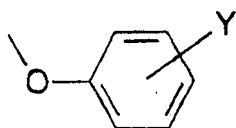
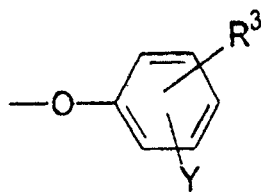
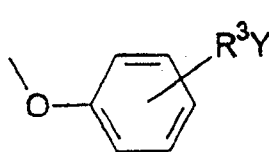
L 基本上可以是任何适宜的离去基团。离去基团是由于过氢氧化物阴离子亲核进攻漂白活化剂, 结果从漂白活化剂上脱去的任何基团。该过水解反应导致形成过羧酸。一般, 为适合的离去基团的基团必须存在吸电子作用。这有助于过氢氧化物阴离子的亲核进攻。

L 基团必须对在最佳的时间段 (例如洗涤周期) 内发生的反应有足够的反应性。可是, 如果 L 反应性太强, 那么该活化剂将难以稳定。这些特征一般与离去基团的共轭酸的 pKa 相应, 此常规的例外情况也是已知的。

优选的漂白活化剂是具有以下通式的那些:

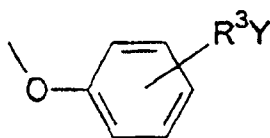


其中 R^1 是含有约 6-约 12 个碳原子的烷基, R^2 是含有 1-约 6 个碳原子的亚烷基, R^5 是氢或含有约 1-约 10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基, 和 L 选自:



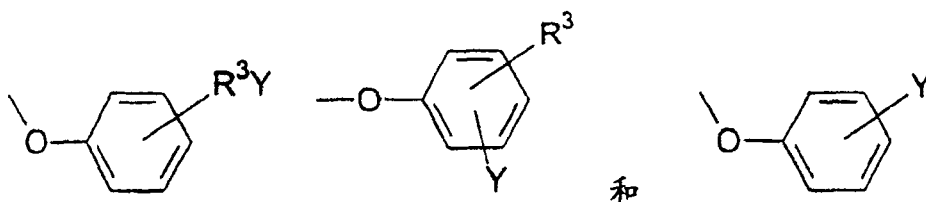
其中 R^6 是含有约 1-约 14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基, R^3 是含有约 1-约 8 个碳原子的烷基链, R^4 是 H 或 R^3 , Y 是 H 或增溶基团, Y

优选选自 $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ 、 $-\text{COO}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{SO}_4^-\text{M}^+$ 、 $(-\text{N}^+\text{R}'_3)\text{X}^-$ 和 $\text{O}\leftarrow\text{N}(\text{R}'_3)$ ，其中 R' 是含有约1-约4个碳原子的烷基链， M 为给漂白活化剂提供溶解性的阳离子， X 为给漂白活化剂提供溶解性的阴离子。优选 M 为碱金属、铵或取代的铵阳离子，最优选钠和钾， X 是选自卤素、氢氧根、甲基硫酸根或乙酸根的阴离子。更优选 Y 是 $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ 、 $-\text{COO}^-\text{M}^+$ 。应当注意到具有不含增溶基团的离去基团的漂白活化剂应当很好地分散在漂白溶液中，以便有助于它们的溶解。优选的是：



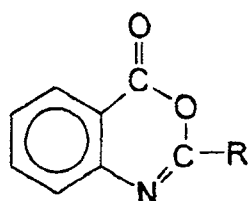
其中 R^3 同以上定义， Y 是 $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ 或 $-\text{COO}^-\text{M}^+$ ，其中 M 同以上定义。

特别优选的漂白活化剂中 R^1 是含有约6-约12个碳原子的直链烷基， R^2 是含有约2-约6个碳原子的直链亚烷基， R^5 是 H ， L 选自：



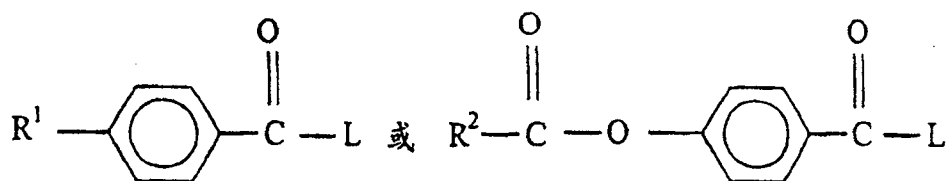
其中 R^3 同以上定义， Y 是 $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ 或 $-\text{COO}^-\text{M}^+$ ， M 同以上定义。

优选的漂白活化剂是：



其中 R 是 H 、烷基、芳基或烷芳基。其描述在Hodge等的美国专利4966723中，其在本文引用作参考。

优选的漂白活化剂是：

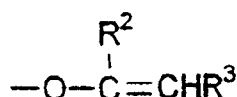
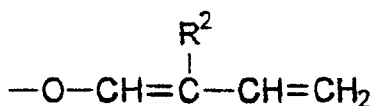
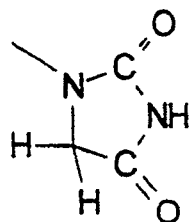
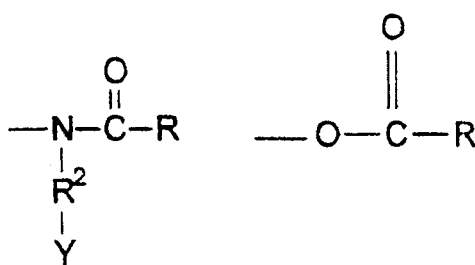
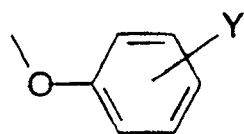
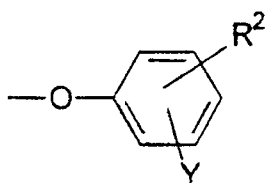
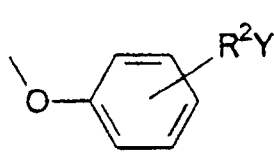


其中 R^1 是 H 或含有约 1-约 6 个碳原子的烷基, R^2 是含有约 1-约 6 个碳原子的烷基, L 同以上定义。

优选的漂白活化剂还为以上通式的那些活化剂, 其中 L 同通式中所定义, R^1 是 H 或含有约 1-约 4 个碳原子的烷基。

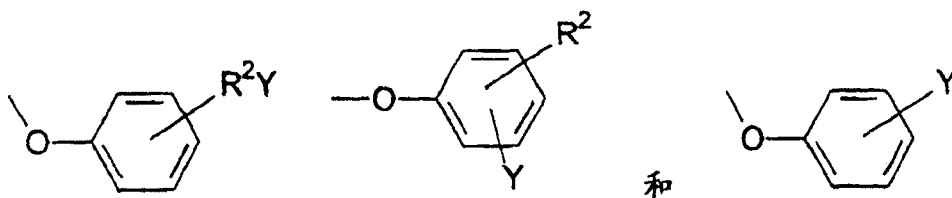
甚至更优选的是以上通式的那些漂白活化剂, 其中 L 如通式中所定义, R^1 是 H。

更优选的漂白活化剂是以上通式的那些漂白活化剂, 其中 R 是含有约 5-约 9, 优选约 6-约 8 个碳原子的直链烷基, L 选自:



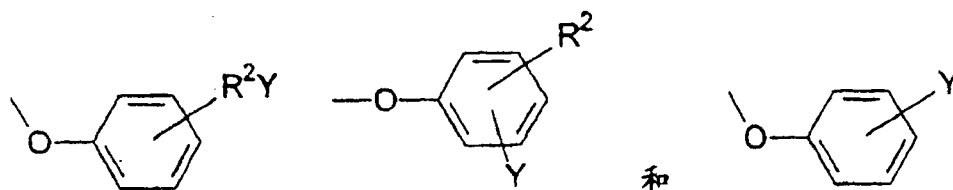
其中 R、R²、R³ 和 Y 同以上定义。

特别优选的漂白活化剂是以上通式的那些漂白活化剂，其中 R 是含有约 5-约 12 个碳原子的烷基，其中从羰基碳延伸的和包括羰基碳的烷基链的最长直链部分含有约 6-10 个碳原子，L 选自：



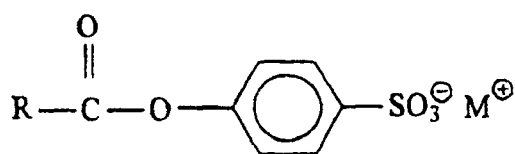
其中 R² 是含有约 1-约 8 个碳原子的烷基链，和 Y 是 -SO₃⁻M⁺ 或 -COO⁻M⁺，其中 M 是碱金属、铵或取代的铵阳离子。

特别优选的漂白活化剂是以上通式的那些漂白活化剂，其中 R 是含有约 5-约 9，优选约 6-约 8 个碳原子的直链烷基，L 选自：



其中 R² 同以上定义，和 Y 是 -SO₃⁻M⁺ 或 -COO⁻M⁺，其中 M 同以上定义。

最优的漂白活化剂具有式：

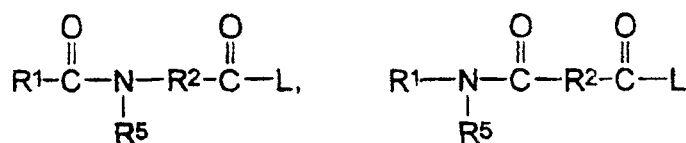


其中 R 是含有约 5-约 9，优选约 6-约 8 个碳原子的直链烷基，M 是钠或钾。

优选，本发明漂白活化剂是壬酰氧基苯磺酸钠 (NOBS) 或苯甲酰氧基苯磺酸钠 (BOBS)。

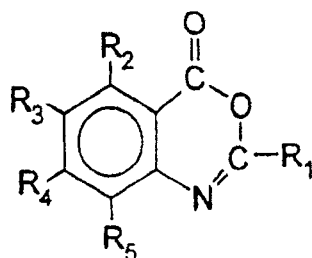
用于本发明漂白组合物中还特别优选的是以下漂白活化剂，其对于具有天然橡胶部件的机器的使用特别安全。相信这是由于这些酰氧基酸衍生的漂白活化剂的过水解反应不产生油性的二酰基过氧化物 (DAP)，而是生成了不溶性的结晶固体 DAP's 的结果。相信这些固体不形成涂膜，由此天然橡胶部件不与 DAP's 接触长时间。这些优选的漂白活化剂选自：

a) 以下通式的漂白活化剂或其混合物:



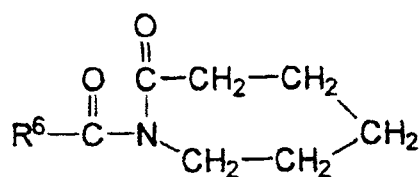
其中, R^1 为含有约 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基, R^2 为含有约 1-14 个碳原子的亚烷基、亚芳基或烷亚芳基, R^5 为 H 或含有约 1-10 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基, 和 L 是离去基团;

b) 以下通式的苯并咪唑型漂白活化剂:



其中 R_1 是 H、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基, 和其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_5 可以是相同或不同的取代基, 其选自 H、卤素、烷基、链烯基、芳基、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、 COOR_6 (其中 R_6 是 H 或烷基) 和羰基官能团;

c) 以下通式的 N-酰基己内酰胺漂白活化剂:



其中 R^6 是 H 或含有 1-12 个碳原子的烷基、芳基、烷氧基芳基或烷芳基; 和

d) a)、b) 和 c) 的混合物。

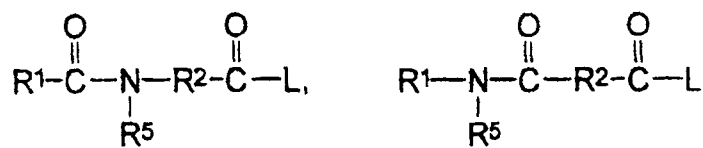
优选的 a) 型漂白活化剂是其中 R^1 是含有约 6-约 12 个碳原子的烷基, R^2 含有约 1-约 8 个碳原子和 R^5 是 H 或甲基的那些漂白活化剂。特别优选的漂白活化剂是以上通式的那些漂白活化剂, 其中 R^1 是含有约 7-约 10 个碳原子的烷基和 R^2 含有约 4-5 个碳原子。

优选的 b) 型漂白活化剂是其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_5 是 H 和 R_1 是苯基的

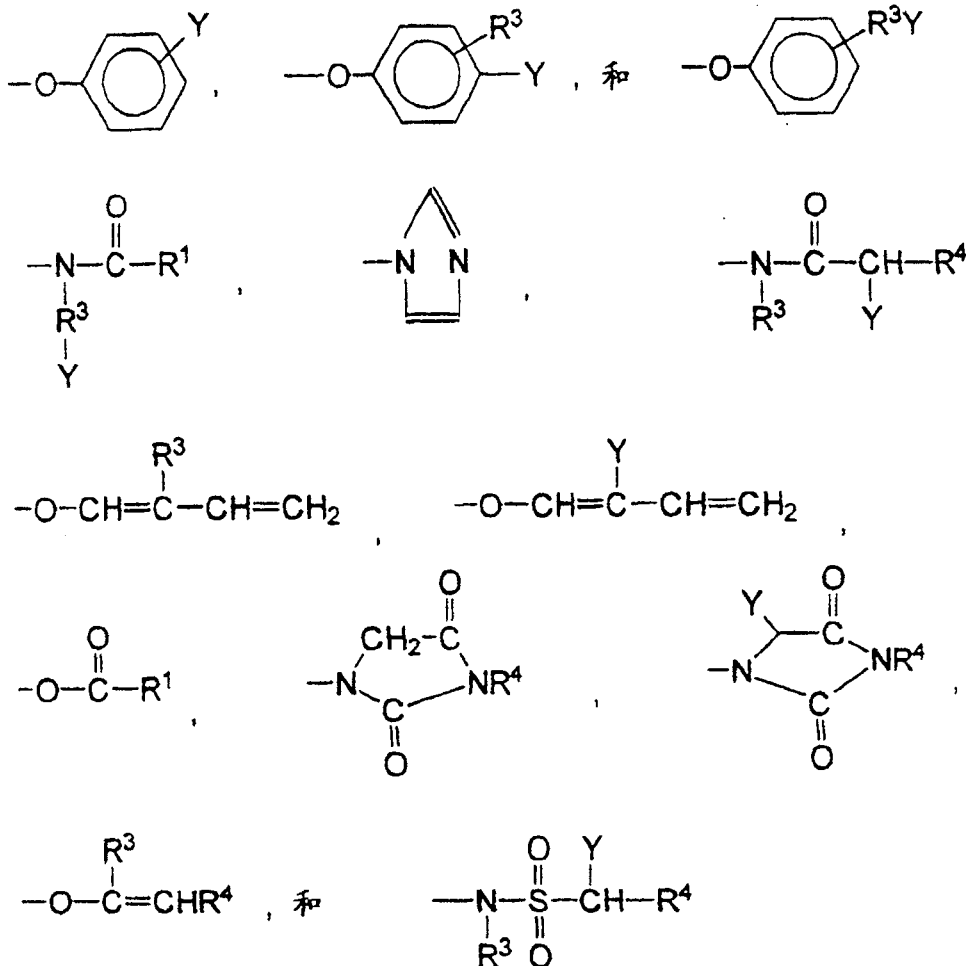
那些漂白活化剂。

优选的所述 c) 型的 N-酰基己内酰胺漂白活化剂的酰基部分具有式 R^6-CO- ，其中 R^6 是 H 或含有 1-12 个碳原子，优选 6-12 个碳原子的烷基、芳基、烷氧基芳基或烷芳基。在高度优选的实例中， R^6 选自苯基、庚基、辛基、壬基、2,4,4-三甲基戊基、癸烯基和其混合物。

酰氨基衍生的漂白活化剂-本发明使用的 a) 型漂白活化剂是以下通式的酰胺取代的化合物或其混合物：



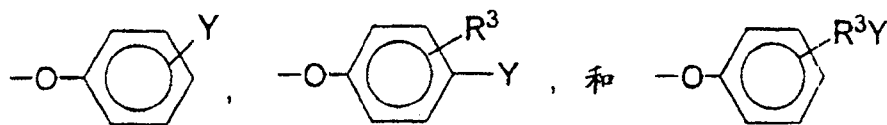
其中 R^1 、 R^2 和 R^5 同以上定义，L 基本上可以是任何适合的离去基团。优选的漂白活化剂是具有以上通式的那些，其中 R^1 、 R^2 和 R^5 同过氧酸中所定义和 L 选自：



和其混合物，其中 R^1 为含有约 1-14 个碳原子的烷基、芳基或烷芳基， R^3 为含有 1-约 8 个碳原子的烷基链， R^4 为 H 或 R^3 ，Y 为 H 或增溶性基团。

优选的增溶性基团为 $-\text{SO}_3^- \text{M}^+$ 、 $-\text{CO}_2^- \text{M}^+$ 、 $-\text{SO}_4^- \text{M}^+$ 、 $-\text{N}^+ (\text{R}^3)_4 \text{X}^-$ 和 $\text{O}=\text{N}(\text{R}^3)_3$ ，最优选 $-\text{SO}_3^- \text{M}^+$ 和 $-\text{CO}_2^- \text{M}^+$ ，其中， R^3 为含有约 1-4 个碳原子的烷基链，M 为给漂白活化剂提供溶解性的阳离子，X 为给漂白活化剂提供溶解性的阴离子。优选 M 为碱金属、铵或取代的铵阳离子，最优选钠和钾，X 为卤素、氢氧根、甲基硫酸根或乙酸根阴离子。应当注意到具有不含增溶基团的离去基团的漂白活化剂应当很好地分散在漂白溶液中，以便有助于它们的溶解。

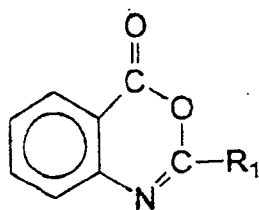
优选的漂白活化剂是以上通式的那些，其中 L 选自：



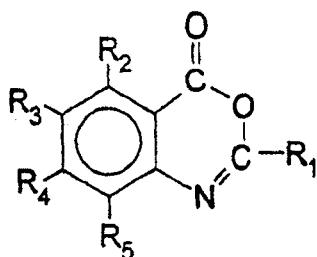
其中 R^3 如上定义，Y 是 $-\text{SO}_3^- \text{M}^+$ 或 $-\text{CO}_2^- \text{M}^+$ ，其中 M 同以上定义。

另一种重要类型的漂白活化剂，包括类型 b) 和类型 c) 的那些，由于过氧化物阴离子亲核进攻环上的羰基碳结果开环得到了本文描述的有机过酸。例如，在类型 c) 活化剂中的开环反应包括过氧化氢或其阴离子进攻己内酰胺环的羰基。由于过氧化氢或其阴离子进攻酰基己内酰胺优选是发生在外环羰基处，因此得到明显的开环部分可能需要催化剂。开环漂白活化剂的另一实例可发现于类型 b) 活化剂中，例如在 1990 年 10 月 30 日授权的 Hodge 等的美国专利 4966723 中公开的那些。

苯并噁嗪型漂白活化剂—由 Hodge 公开的这种活化剂化合物包括苯并噁嗪型活化剂，其具有式：

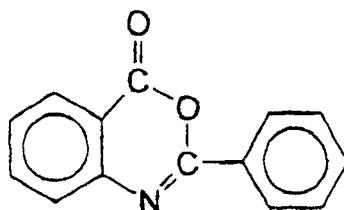


包括以下类型的取代的苯并噁嗪：



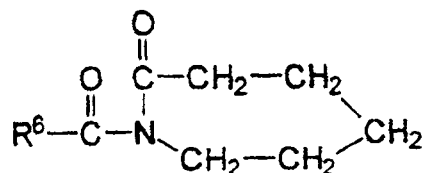
其中 R_1 是 H、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基，和其中 R_2 , R_3 , R_4 和 R_5 可以是相同或不同的取代基，其选自 H、卤素、烷基、链烯基、芳基、羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基、 COOR_6 （其中 R_6 是 H 或烷基）和羰基官能团。

苯并咪唑型的优选活化剂是：



当使用活化剂时，为促进过水解反应，洗涤溶液的 pH 在约 8.5-10.5，优选 9.5-10.5，该洗涤溶液得到了漂白表面的最佳性能。这种 pH 可用通常已知的为缓冲剂的物质得到，其为本发明漂白体系的任选组分。

N-酰基己内酰胺漂白活化剂-本发明使用的类型 c) 的 N-酰基己内酰胺漂白活化剂具有式：



其中 R^6 是 H 或含有 1-12 个碳原子的烷基、芳基、烷氧基芳基或烷芳基。其中 R^6 部分含有至少约 6 个碳原子，优选 6-约 12 个碳原子的己内酰胺活化剂提供了疏水漂白，如上所述，其能清洁亲核和人体污垢。其中 R^6

含有 1-约 6 个碳原子的己内酰胺活化剂提供了亲水漂白物，其对漂白饮料污渍特别有效。本发明可使用疏水和亲水己内酰胺一般以重量比 1:5-5:1，优选 1:1 的混合物，以获得去除混合污渍的效果。

高度优选的 N-酰基己内酰胺选自苯甲酰己内酰胺、辛酰基己内酰胺、壬酰基己内酰胺、3,5,5-三甲基己酰基己内酰胺、癸酰基己内酰胺、十一碳烯酰基己内酰胺和其混合物。制备 N-酰基己内酰胺的方法是本领域已知的。

与美国专利 4545784 中的教导相反，漂白活化剂优选不吸附到过氧漂白化合物中。否则这样作，在存在其他有机去污组分下，会引起安全性问题。

类型 a)、b)或 c)的漂白活化剂占漂白体系或漂白组合物重量的至少约 0.01%，优选从约 0.1%，更优选从约 1%，最优选从约 3%-50%，优选至约 30%，更优选至约 15%，还更优选至约 10%，最优选至约 8%。

本发明优选的酰氨基衍生的和己内酰胺漂白活化剂还可与橡胶安全、酶安全的亲水活化剂例如 TAED 结合使用，一般以酰氨基衍生的或己内酰胺活化剂:TAED 的重量比为 1:5-5:1，优选约 1:1。

高度优选的漂白活化剂选自四乙酰乙二胺 (TAED)、苯甲酰己内酰胺 (BzCL)、4-硝基苯甲酰己内酰胺、3-氯代苯甲酰己内酰胺、苯甲酰氧基苯磺酸盐 (BOBS)、壬酰氧基苯磺酸盐 (NOBS)、苯甲酸苯酯 (PhBz)、癸酰氧基苯磺酸盐 (C_{10} -OBS)、苯甲酰戊内酰胺 (BZVL)、辛酰氧基苯磺酸盐 (C_8 -OBS)、可过水解的酯和它们的混合物，最优选苯甲酰己内酰胺和苯甲酰戊内酰胺。在 pH 约 8-9.5 范围的特别优选的漂白活化剂是那些选择具有 OBS 或 VL 离去基团的活化剂。

其他优选的漂白活化剂描述在 1997 年 12 月 16 日授权的 Christie 等的美国专利 5698504；1997 年 12 月 9 日授权的 Christie 等的美国专利 5695679；1997 年 11 月 11 日授权的 Willey 等的美国专利 5686401；1997 年 11 月 11 日授权的 Hartshorn 等的美国专利 5686014；1995 年 4 月 11 日授权的 Willey 等的美国专利 5405412；1995 年 4 月 11 日授权的 Willey 等美国专利 5405413；1992 年 7 月 14 日授权的 Mitchel 等的美国专利 5130045；和 1983 年 11 月 1 日授权的 Chung 等的美国专利 4412934，和未结案的美国专利申请序号 08/709072，08/064564，所有这些在本文引用作参考。

优选的疏水漂白活化剂包括,但不限于:壬酰氧基苯磺酸盐(NOBS)、4-[N-(壬酰基)氨基己酰基氧]苯磺酸钠(NACA-OBS),其实例描述在美国专利5523434中,十二烷酰基氧基苯磺酸盐(LOBS或C₁₂-OBS)、10-十一碳烯酰基氧基苯磺酸盐(UDOBS或C₁₁-OBS,在10-位置有不饱和度)和癸酰基氧基苯甲酸(DOBA)。

还可包括四元取代的漂白活化剂。本发明清洗组合优选包含四元取代的漂白活化剂(QSBA)或四元取代的过酸(QSP);更优选前者。优选的QSBA结构还被描述在1997年11月11日授权的Willey等的美国专利5686015;1997年8月5日授权的Taylor等的美国专利5654421;1995年10月24日授权的Gosselink等的美国专利5460747;1996年12月17日授权的Miracle等的美国专利5584888和1996年11月26日授权的Taylor等的美国专利5578136,所有这些在本文引用作参考。

本发明有用的高度优选的漂白活化剂是酰胺-取代的类型,如美国专利5698504,5695679和5686014中所述,其在本文引用作参考。这种漂白活化剂的优选实例包括(6-辛酰氨基己酰基)氧苯磺酸盐,(6-壬酰氨基己酰基)氧苯磺酸盐,(6-癸酰氨基己酰基)氧苯磺酸盐,和它们的混合物。

公开在美国专利5698504,5695679和5686014(其在本文引用作参考)和1990年10月30日授权的Hodge等的美国专利4966723中的其他有用的活化剂包括苯并咪唑型活化剂,例如C₆H₄环被稠合在-C(O)OC(R¹)=N-部分的1,2-位置。

根据活化剂和确切的应用,可由在使用中pH为约6-约13,优选约9.0-约10.5的漂白体系得到良好的漂白结果。一般,例如,具有吸电子部分的活化剂是用于近中性或中性以下pH范围。碱和缓冲剂可用于保证这种pH。

如描述在美国专利5698504,5695679和5686014(其在本文引用作参考)中的酰基内酰胺活化剂是本发明非常有用的,尤其是酰基己内酰胺(参见例如W094-28102A)和酰基戊内酰胺(参见1996年4月2日授权的Willey等的US5503639,其在本文引用作参考)。

一般,漂白机理,和尤其是漂白表面的机理不完全清楚。然而,一般认为漂白活化剂经过过氧化物阴离子的亲核进攻,形成了过氧羧酸,其中所述过氧化物阴离子是由过氧漂白剂放出的过氧化氢产生

的。该反应通常称为过水解。

当使用活化剂时，为促进过水解反应，洗涤溶液的 pH 在约 8.5-10.5，优选 9.5-10.5，该洗涤溶液得到了漂白表面的最佳性能。这种 pH 可用通常已知的为缓冲剂的物质得到，其为本发明漂白体系的任选组分。

(ii) 过氧漂白化合物

本发明有用的过氧漂白体系是在水溶液中能够产生过氧化氢的那些。这些化合物是本领域公知的并包括过氧化氢和碱金属过氧化物、有机过氧漂白化合物例如尿素过氧化物，和无机过盐漂白化合物，例如碱金属过硼酸盐、过碳酸盐、过磷酸盐等。若需要的话，也可使用两种或多种这样漂白化合物的混合物。

过氧化氢源详细地描述在本文引用的 Kirk Othmer 的化学工艺百科全书，第 4 版（1992, John Wiley & Sons），第 4 卷，第 271-300 页“漂白剂（综述）”，包括各种形式的过硼酸钠和过碳酸钠，包括各种涂覆和改性的形式。

优选的过氧漂白化合物包括过硼酸钠，商业上可得到的是一，三和四水合物形式，焦磷酸钠过氧水合物，尿素过氧水合物，过碳酸钠和过氧化钠。特别优选的是过硼酸钠四水合物、过硼酸钠一水合物和过碳酸钠。过碳酸钠是特别优选的，因为其在储存下非常稳定并且还非常快地溶解到漂白水溶液中。相信这种快速的溶解导致形成高含量的过羧酸，由此增强了漂白表面的性能。

高度优选的过碳酸盐可以是未涂覆或被涂覆的形式。未涂覆过碳酸盐的平均粒度为约 400-1200 微米，最优选约 400-600 微米。若使用涂覆的过碳酸盐，优选的涂覆材料包括碳酸盐和硫酸盐的混合物，硅酸盐，硼硅酸盐或脂肪酸。

过氧漂白化合物占漂白体系或漂白组合物重量的至少约 0.1%，优选约 1%-75%，更优选约 3%-40%，最优选约 3%-25%。

漂白体系中，漂白活化剂与过氧漂白化合物的重量比一般为约 2:1-1:5。优选的比例范围是约 1:1-1:3。

在本发明中，过氧漂白化合物（按 AvO）与漂白活化剂的摩尔比一般至少为 1:1，优选从至少 1.5:1，最优选从至少 2:1，至约 20:1，优选至约 10:1，更优选至约 3:1。优选，本发明漂白组合物包含约 0.5%-

20%，最优选约 1%-10%重量过氧漂白化合物。

本发明漂白活化剂/漂白化合物体系本身可作为漂白剂。然而，这种漂白体系特别适用于可包含各种去污辅助物例如表面活性剂、助洗剂等的组合物中。

漂白催化剂-本发明组合物还可包含一种或多种漂白催化剂。优选的漂白催化剂是两性离子漂白催化剂，其描述在美国专利 5576282 和 5817614 中（特别是 3-(3,4-二氢异喹啉鎓)丙磺酸盐。其他漂白催化剂包括阳离子漂白催化剂，其描述在美国专利 5360569、5442066、5478357、5370826、5482515、5550256 和 W095/13351, W095/13352 和 W095/13353 中。

漂白组合物

除了上文所述的一种或多种蛋白酶变体和一种或多种漂白剂外，本发明漂白组合物还包含最好与蛋白酶变体和漂白剂相容的一种或多种清洗辅助物质。本文所述术语“相容”意思是漂白组合物材料不降低蛋白酶的蛋白水解活性至蛋白酶在正常的使用条件下不是预期有效的程度。本文使用的术语“清洗辅助物质”意思是选择用于理想的特定类型的漂白组合物和产品形式（例如液体；颗粒；粉状；条；膏状；喷雾剂；片；凝胶；泡沫体组合物）的任何液体、固体或气态材料，该材料还优选与组合物中使用的蛋白酶和漂白剂是相容的。颗粒组合物还可以是“密实”形式，液体组合物还可以是“浓缩”形式。

清洗辅助物质的具体选择可容易地由考虑被清洗的表面、物品或织物和用于使用中的清洗条件（例如洗涤剂使用经过的）的所需组合物形式来确定。适合的清洗辅助物质的实例包括，但不限于：表面活性剂、助洗剂、漂白剂、漂白活化剂、漂白催化剂、其他酶、酶稳定体系、螯合剂、荧光增白剂、污垢解聚聚合物、染料转移抑制剂、分散剂、抑泡剂、染料、香料、着色剂、填料盐、水溶助长剂、光活化剂、荧光剂、织物调理剂、可水解的表面活性剂、防腐剂、抗氧化剂、防缩剂、抗皱剂、杀菌剂、杀真菌剂、色粒、银器护理剂、防霉暗和/或防腐剂、碱源、增溶剂、载体、加工助剂、颜料和 pH 控制剂，其描述在美国专利 5705464、5710115、5698504、5695679、5686014 和 5646101 中。具体的漂白组合物物质在下文详细举例说明。

若清洗辅助物质与漂白组合物中的蛋白酶变体不相容，则可使用适

当的方法，保持清洗辅助物质和蛋白酶变体隔离（彼此不相互接触），直至两种组分的组合是适当的。适合的方法可以是本领域任何公知的方法，例如胶封、包胶、成片、物理分离等。

优选在适用于清洗需要去除蛋白质类污垢的各种表面的组合物中包括有效量的上述一种或多种蛋白酶变体。这种漂白组合物包括用于清洗硬表面的洗涤剂组合物，形式不限（例如液体、颗粒、膏体、泡沫体、喷雾剂等）；用于清洗织物的洗涤剂组合物，形式不限（例如颗粒、液体、条制品等）；洗餐具组合物（形式不限并包括自动洗餐具用颗粒和液体）；口腔增白组合物，形式不限（例如洁齿剂、牙膏和漱口制剂）；和假牙漂白组合物，形式不限（例如液体、片）。

本发明织物漂白组合物主要是用于洗衣机的洗涤周期中；然而，其他用途也被考虑，例如作为重污垢织物的预处理产品，或浸泡产品；其用途不必然就限制在用于洗衣机方面，本发明组合物可以单独使用或与可相容的手洗组合物结合使用。

这里所述的“有效量的蛋白酶变体”是指需要获得在特定漂白组合物中所需的酶活性的上述蛋白酶变体的数量。这种有效量容易由本领域的普通技术人员来确定，其基于许多因素，例如所用的特定变体、清洗应用、漂白组合物的特定组成和是否需要液体或干燥（例如颗粒、条）组合物等。

优选漂白组合物包含约 0.0001%-10%本发明的一种或多种蛋白酶变体，更优选约 0.001%-1%，还更优选约 0.001%-0.1%。还优选本发明蛋白酶变体在组合物中存在足够量，以提供每 100g 组合物的活性蛋白酶 mg 与来自洗涤水溶液中的任何过氧酸的理论有效 O_2 (“ AvO_2 ”) ppm 之比，在本文称为酶与漂白剂之比（E/B 之比），为约 1:1-20:1。在下文进一步详细地讨论其中可使用本发明蛋白酶变体的各种漂白组合物的几个实例。另外，漂白组合物按该组合物的重量计可包括约 1%-99.9%清洗辅助物质。

这里所述的“非织物漂白组合物”包括硬表面漂白组合物、洗餐具组合物、口腔漂白组合物、假牙漂白组合物和个人清洗组合物。

当本发明漂白组合物配制成适用于洗衣机洗涤方法的组合物时，本发明组合物优选含有表面活性剂和助洗剂两类化合物和其他的一种或多种清洗辅助物质，其优选选自有机聚合物、漂白剂、附加酶、抑泡

剂、分散剂、钙皂分散剂、污垢悬浮和抗再沉积剂和腐蚀抑制剂。洗衣组合物还可含有柔软剂，其作为其他的清洗辅助物质。

本发明组合物还可作为固体或液体形式的洗涤剂添加剂产品。这种添加剂产品用于补充或促进常规洗涤剂组合物的性能并可在清洗过程的任何阶段加入。

当配制成用于手洗餐具方法的组合物时，本发明组合物优选含有表面活性剂和优选含有其它的清洗辅助物质，其选自有机聚合物、增泡剂、II族的金属离子、溶剂、水溶助长剂和附加酶。

如果需要的话，本发明洗衣洗涤剂组合物在 20℃下测定的密度为 400-1200g/l，优选 500-950g/l 组合物。

本发明漂白组合物的“密实”形式由密度和就组成而言，由无机填料盐的量得以最好地反映。无机填料盐是粉状洗涤剂组合物的常规组分。在常规洗涤剂组合物中，填料盐是以大量存在，一般为总组合物重量的 17-35%。在密实组合物中，填料盐的含量不超过总组合物的 15%，优选不超过 10%，最优选不超过组合物重量的 5%。无机填料盐，例如在本发明组合物中意思是选自碱金属和碱土金属硫酸盐和氯化物。优选的填料盐是硫酸钠。

根据本发明的液体漂白组合物还可以是“浓缩形式”，在这种情况下，根据本发明的液体漂白组合物比常规液体洗涤剂将含有更低量的水。一般浓缩液体漂白组合物水含量，按该漂白组合物重量计，优选少于 40%，更优选少于 30%，最优选少于 20%。

清洗辅助物质

表面活性剂体系-包括在由本发明制得的完整配方的漂白组合物中的去污表面活性剂占漂白组合物重量的至少 0.01%，优选至少约 0.1%，更优选至少约 0.5%，最优选至少约 1%-60%，更优选至约 35%，最优选至约 30%，这取决于所用的特定表面活性剂和所要求的效果。

去污表面活性剂可以是非离子型、阴离子型、两性型、两性离子型、阳离子型、半极性非离子型的表面活性剂和其混合物，其非限制性实例公开在美国专利 5707950 和 5576282 中。优选的洗涤剂和漂白组合物包含阴离子去污表面活性剂或阴离子表面活性剂与其他表面活性剂，特别是非离子表面活性剂的混合物。

适用于本发明的表面活性剂的非限制实例包括常规 C_{11} - C_{18} 烷基苯磺酸盐和伯、仲和无规烷基硫酸盐, C_{10} - C_{18} 烷基烷氧基硫酸盐, C_{10} - C_{18} 烷基多苷和它们相应的硫酸化多苷, C_{12} - C_{18} α -磺化的脂肪酸酯, C_{12} - C_{18} 烷基和烷基酚烷氧基化物(特别是乙氧基化物和混合的乙氧基/丙氧基化物), C_{12} - C_{18} 甜菜碱和磺基甜菜碱, C_{10} - C_{18} 氧化胺等。其它常规适用的表面活性剂列在标准教科书中。

优选配制表面活性剂与组合物中存在的酶组分相容。在液体或凝胶组合物中, 最优选配制表面活性剂使得其促进或至少不降低这些组合物中的任何酶的稳定性。

非离子表面活性剂-烷基酚的聚氧乙烯、聚氧丙烯和聚氧丁烯的缩合物适合用作本发明表面活性剂体系中的非离子型表面活性剂, 优选的是聚氧乙烯缩合物。商业上可购得的这种类型的非离子表面活性剂包括 Igepal™ CO-630, 是由 GAF Corporation 出售的; 和 Triton™ X-45, X-114, X-100 和 X-102, 它们都是由 Rohm&Haas 公司出售的。这些表面活性剂通常称为烷基酚烷氧基化物(例如烷基酚乙氧基化物)。

伯和仲脂肪醇与约 1 至约 25 摩尔环氧乙烷的缩合产物适合用作本发明非离子表面活性剂体系中的非离子表面活性剂。商业上可购得的这种类型的非离子表面活性剂包括 Tergitol™ 15-S-9 (C_{11} - C_{15} 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物)、Tergitol™ 24-L-6 NMW (C_{12} - C_{14} 伯醇与 6 摩尔环氧乙烷的缩合产物, 并具有窄的分子量分布), 两种均由 Union Carbide Corporation 出售; 由 Shell Chemical Company 出售的 Neodol™ 45-9 (C_{14} - C_{15} 直链醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物), Neodol™ 23-3 (C_{12} - C_{13} 直链醇与 3.0 摩尔环氧乙烷的缩合产物), Neodol™ 45-7 (C_{14} - C_{15} 直链醇与 7 摩尔环氧乙烷的缩合产物), Neodol™ 45-5 (C_{14} - C_{15} 直链醇与 5 摩尔环氧乙烷的缩合产物); 由 Procter&Gamble Company 出售的 Kyro™ EOB (C_{13} - C_{15} 醇与 9 摩尔环氧乙烷的缩合产物); 和由 Hoechst 出售的 Genapol LA030 或 LA 050 (C_{12} - C_{14} 醇与 3 或 5 摩尔环氧乙烷的缩合产物)。这些产物优选的 HLB 范围是 8-11, 最优选 8-10。

还适合用作本发明表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是在美国专利 US 4565647 中公开的烷基多糖。

优选的烷基多苷具有式: $R^2O(C_nH_{2n}O)_t(糖基)_x$

其中 R^2 选自烷基、烷基苯基、羟烷基、羟烷基苯基和其混合物, 其中烷

基含有约 10 至约 18 个碳原子, 优选约 12 至约 14 个碳原子; n 是 2 或 3, 优选 2; t 是 0 至约 10, 优选 0; x 是约 1.3 至约 10, 优选约 1.3 至约 3, 最优选约 1.3 至约 2.7.

环氧乙烷与通过环氧丙烷与丙二醇缩合形成的疏水基的缩合产物也适合用作本发明附加的非离子表面活性剂体系。这种类型化合物的实例包括一些商业上可购得的 Plurafac™ LF404 和 Pluronic™ 表面活性剂, 它由 BASF 出售。

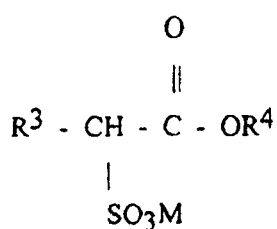
也适合用作本发明非离子表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是环氧乙烷与由环氧丙烷和乙二胺反应得到的产物进行缩合的产物。这种类型非离子表面活性剂的实例包括一些商业上可购得的 Tetronic™ 化合物, 由 BASF 出售。

优选的用作本发明表面活性剂体系中的非离子表面活性剂的是烷基酚的聚氧乙烯缩合物、伯和仲脂肪醇与约 1 至约 25 摩尔环氧乙烷的缩合产物、烷基多糖和其混合物。最优选的是具有 3 至 15 个乙氧基的 C_8 - C_{14} 烷基酚乙氧基化物和具有 2 至 10 个乙氧基的 C_8 - C_{18} 醇乙氧基化物(优选 C_{10} 平均), 和其混合物。

高度优选的非离子表面活性剂是式: $R^2-C(O)-N(R^1)-Z$ 的多羟基脂肪酰胺表面活性剂, 其中 R^1 是 H, 或 R^1 是 C_{1-4} 烷基、2-羟基乙基、2-羟基丙基或其混合物, R^2 是 C_{5-31} 烷基, Z 是具有直接连有至少 3 个羟基的直链烷基链的多羟基烷基, 或其烷氧基化的衍生物。优选 R^1 是甲基, R^2 是直链 C_{11-15} 烷基或 C_{16-18} 烷基或链烯基例如椰子油烷基或其混合物, Z 是由在还原胺化反应中的还原糖例如葡萄糖、果糖、麦芽糖、乳糖衍生物得到。

阴离子表面活性剂-适合使用的阴离子表面活性剂是直链烷基苯磺酸盐、烷基酯磺酸盐表面活性剂, 包括按照“美国油化学家学会杂志”(“The Journal of the American Oil Chemists Society”), 52 (1975), 第 323-329 页的方法用气态 SO_3 磺化的直链 C_8 - C_{20} 羧酸(即脂肪酸)酯。适合的原料包括天然的脂肪类物质如由牛油、棕榈油等衍生的物质。

特别用于洗衣应用的优选的烷基酯磺酸盐表面活性剂包括具有以下结构式的烷基酯磺酸盐表面活性剂:



其中 R^3 是 C_8 - C_{20} 烃基, 优选烷基, 或其组合, R^4 是 C_1 - C_6 烃基, 优选烷基, 或其组合, M 是阳离子, 其与烷基酯磺酸根形成水溶性盐。适合的盐阳离子包括金属例如钠、钾和锂, 以及取代或未取代的铵阳离子例如单乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺。优选 R^3 是 C_{10} - C_{16} 烷基, R^4 是甲基、乙基或异丙基。特别优选的是甲基酯磺酸盐其中 R^3 是 C_{10} - C_{16} 烷基。

其它适合的阴离子表面活性剂包括烷基硫酸盐表面活性剂, 其是式 ROSO_3M 的水溶性盐或酸, 其中 R 优选是 C_{10} - C_{24} 烃基, 优选烷基或具有 C_{10} - C_{20} 烷基部分的羟烷基, 更优选 C_{12} - C_{18} 烷基或羟烷基, M 是 H 或阳离子。一般对于较低的洗涤温度 (例如低于约 50°C), 优选 C_{12} - C_{16} 烷基链, 而对较高的洗涤温度 (例如高于约 50°C), 优选 C_{16} - C_{18} 烷基链。

其它可用于洗涤目的的阴离子表面活性剂包括皂的盐、 C_8 - C_{22} 伯或仲烷烃磺酸盐、 C_8 - C_{24} 链烯烃磺酸盐、通过磺化碱土金属柠檬酸盐的热解产物制得的磺化的多羧酸, 例如在英国专利说明书 No. 1, 082, 179 中所描述的; C_8 - C_{24} 烷基聚乙二醇醚磺酸盐 (含有多至 10 摩尔氧乙烯); 烷基甘油磺酸盐、脂肪酰基甘油磺酸盐、脂肪油酰基甘油磺酸盐、烷基酚氧乙烯醚磺酸盐、石蜡烃磺酸盐、烷基磷酸盐、羟乙磺酸盐例如酰基羟乙磺酸盐、 N -酰基牛磺酸盐、烷基琥珀酰胺酸盐和磺基琥珀酸盐、磺基琥珀酸单酯 (特别是饱和和不饱和的 C_{12} - C_{18} 单酯) 和磺基琥珀酸二酯 (特别是饱和和不饱和的 C_6 - C_{12} 二酯)、酰基肌氨酸盐、烷基多糖的硫酸盐例如烷基多葡萄糖苷硫酸盐 (下文描述的非离子性的非硫酸化的化合物)、支链的伯烷基硫酸盐和烷基聚乙氧基羧酸盐例如那些具有式 $\text{RO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_k\text{CH}_2\text{COO}^-\text{M}^+$ 的盐, 其中 R 是 C_8 - C_{22} 烷基, k 为 1 至 10 的整数, M 是形成可溶性盐的阳离子。树脂酸和氢化树脂酸也是适用的, 例如松香、氢化松香, 以及存在于松浆油或由松浆油衍生的树脂酸和氢化树脂酸。

其它例子被描述在“表面活性剂和洗涤剂” (第 I 和 II 卷, 由

Schwartz, Perry 及 Berch 编著)书中。各种这样的表面活性剂也一般性地公开在 1975 年 12 月 30 日授予 Laughlin 等人的美国专利 US3,929,678, 第 23 栏 58 行至 29 栏 23 行中(本文引用作参考)。

高度优选的阴离子表面活性剂包括烷基烷氧基化硫酸盐表面活性剂, 其是式 $RO(A)_mSO_3M$ 的水溶性盐或酸, 其中 R 是未取代的 $C_{10}-C_{24}$ 烷基或具有 $C_{10}-C_{24}$ 烷基部分的羟烷基, 优选 $C_{12}-C_{20}$ 烷基或羟烷基, 更优选 $C_{12}-C_{18}$ 烷基或羟烷基, A 是乙氧基或丙氧基单元, m 值大于 0, 一般在约 0.5 至约 6 之间, 更优选在约 0.5 至约 3 之间, M 是 H 或阳离子, 其可以是例如金属阳离子(例如钠、钾、锂、钙、镁等)、铵或取代的铵阳离子。烷基乙氧基化硫酸盐以及烷基丙氧基化硫酸盐是本发明预期使用的。取代的铵阳离子的具体实例包括甲基、二甲基、三甲基铵阳离子和季铵阳离子例如四甲基铵和二甲基吡啶鎓阳离子, 以及那些由烷基胺例如乙胺、二乙胺、三乙胺和其混合物衍生的阳离子等。示例性的表面活性剂有 $C_{12}-C_{18}$ 烷基聚乙氧基化物(1.0)硫酸盐($C_{12}-C_{18}E(1.0)M$), $C_{12}-C_{18}$ 烷基聚乙氧基化物(2.25)硫酸盐($C_{12}-C_{18}E(2.25)M$), $C_{12}-C_{18}$ 烷基聚乙氧基化物(3.0)硫酸盐($C_{12}-C_{18}E(3.0)M$)和 $C_{12}-C_{18}$ 烷基聚乙氧基化物(4.0)硫酸盐($C_{12}-C_{18}E(4.0)M$), 其中 M 适宜选自钠和钾。

当含有它们时, 本发明漂白组合物典型地含有从约 1%, 优选从约 3% 至约 40%, 优选约 20%重量的这种阴离子表面活性剂。

阳离子表面活性剂-适合用于本发明漂白组合物中的阳离子去污表面活性剂是那些具有一个长链烃基的表面活性剂。这种阳离子型表面活性剂的实例包括铵盐表面活性剂例如烷基三甲基卤化铵, 以及具有下式的那些表面活性剂: $[R^2(OR^3)_y][R^4(OR^3)_y]_2R^5N^+X^-$, 其中 R^2 是在其烷基链中含有约 8 至约 18 个碳原子的烷基或烷基苄基, 每个 R^3 选自 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CH_2OH)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 和其混合物; 每个 R^4 选自 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 羟烷基、由连接两个 R^4 基团形成的苄基环结构、 $-CH_2CHOH-CHOHCOR^6CHOHCH_2OH$, 其中 R^6 是分子量小于约 1000 的任何己糖或己糖聚合物基团, 以及氢(当 y 不为 0 时); R^5 是同 R^4 相同的基团, 或者是烷基链, 其中 R^2 加 R^5 的碳原子总数不多于约 18 个; 每个 y 是 0 至约 10, 并且 y 值总和为 0 至约 15; X 是任何一种相容的阴离子。

适用于本发明组合物的高度优选的阳离子型表面活性剂是水溶性季

铵盐化合物，其具有式(i)： $R_1R_2R_3R_4N^+X^-$ ，其中 R_1 是 C_8-C_{15} 烷基，每个 R_2 、 R_3 和 R_4 独立地为 C_1-C_4 烷基、 C_1-C_4 羟烷基、苄基和 $-(C_2H_4O)_xH$ ，其中 x 值为 2 至 5， X 是阴离子。 R_2 、 R_3 、 R_4 中是苄基的应当不能多于一个。 R_1 的烷基链长优选是 $C_{12}-C_{15}$ ，特别是，该烷基是由椰子或棕榈仁脂肪衍生的链长的混合物，或者是通过链烯烃或羧基合成醇合成得到的。 R_2 、 R_3 和 R_4 优选的基团是甲基和羟乙基，并且阴离子 X 可选自卤化物、甲基硫酸根、乙酸根和磷酸根离子。

用于本发明的具有式(i)的适合季铵盐化合物的实例包括，但不限于：椰子油三甲基氯化铵或溴化铵；椰子油甲基二羟乙基氯化铵或溴化铵；癸基三乙基氯化铵；癸基二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵； $C_{12}-C_{15}$ 二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵；椰子油二甲基羟乙基氯化铵或溴化铵；肉豆蔻基三甲基甲基硫酸铵；月桂基二甲基苄基氯化铵或溴化铵；月桂基二甲基(氧乙烯)₄氯化铵或溴化铵；胆碱酯(式(i)的化合物，其中 R_1 是 $CH_2-CH_2-O-C(O)-C_{12-14}$ 烷基，和 R_2 、 R_3 、 R_4 是甲基)；和二烷基咪唑啉 [(i)]。

本发明有用的其它阳离子表面活性剂还描述在 1980 年 10 月 14 日授予的 Cambre 的美国专利 US4, 228, 044 和欧洲专利申请 EP000, 224 中。

当包含它们时，本发明漂白组合物典型地含有约 0.2%，优选从约 1% 至约 25%，优选至约 8% 重量这种阳离子表面活性剂。

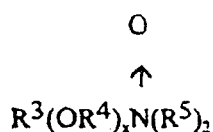
两性表面活性剂-两性表面活性剂也适用于本发明漂白组合物中，其实例描述在美国专利 3929678 中。

当包含它们时，本发明漂白组合物典型地含有约 0.2%，优选从约 1% 至约 15%，优选至约 10% 重量这种两性表面活性剂。

两性离子表面活性剂-两性离子表面活性剂也适用于漂白组合物中，其实例描述在美国专利 3929678 中。

当包含它们时，本发明漂白组合物典型地含有约 0.2%，优选从约 1% 至约 15%，优选至约 10% 重量这种两性离子表面活性剂。

半极性非离子表面活性剂-半极性非离子表面活性剂是特殊的一类非离子表面活性剂，其包括具有下式的水溶性氧化胺：



其中 R^3 是含有约 8 至约 22 个碳原子的烷基、羟烷基或烷基苯基、或它们的混合物； R^4 是含有约 2 至约 3 个碳原子的亚烷基或羟亚烷基或它们的混合物； x 为 0 至约 3；每个 R^5 是含有约 1 至约 3 个碳原子的烷基或羟烷基或含有约 1 至约 3 个氧乙烯基团的聚氧乙烯基团。（ R^5 基团可彼此连接，例如通过氧或氮原子连接形成环状结构）；水溶性氧化膦，其含有一个约 10-18 个碳原子的烷基部分和选自含有约 1-3 个碳原子的烷基和羟烷基的两个残基部分；和水溶性亚砷，其含有一个约 10-18 个碳原子的烷基部分和选自具有约 1-3 个碳原子的烷基和羟烷基的一个残基部分。

氧化胺表面活性剂特别是包括 C_{10} - C_{18} 烷基二甲基氧化胺和 C_8 - C_{12} 烷基乙基二羟乙基氧化胺。

当包含它们时，本发明清洗组合物典型地含有 0.2%，优选从约 1% 至约 15%，优选至约 10% 重量这种半极性非离子表面活性剂。

辅助表面活性剂-本发明漂白组合物还可包含选自伯或叔胺的辅助表面活性剂。用于本发明的适合的伯胺包括根据式 R_1NH_2 的胺，其中 R_1 是 C_6 - C_{12} ，优选 C_6 - C_{10} 烷基链，或 $\text{R}_4\text{X}(\text{CH}_2)_n$ ， X 是 $-\text{O}-$ ， $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ 或 $-\text{NH}-$ ， R_4 是 C_6 - C_{12} 烷基链， n 是 1-5，优选 3。 R_1 烷基链可以是直链或支链，并且可间隔多至 12 个，优选少于 5 个氧乙烯部分。

根据本文上式，优选的胺是正烷基胺。用于本发明适合的胺可选自 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺和月桂胺。其它优选的伯胺包括 C_8 - C_{10} 氧丙胺、辛氧基丙基胺、2-乙基己基氧丙基胺、月桂基酰氨基丙基胺和酰氨基丙基胺。用于本发明组合物最优选的胺是 1-己胺、1-辛胺、1-癸胺、1-十二烷基胺。特别适合的是正十二烷基二甲基胺和二羟乙基椰子油烷基胺和 7 摩尔乙氧基化的油胺、月桂基酰氨基丙基胺和椰子油酰氨基丙基胺。

LFNIs-在本发明自动洗餐具组合物 (ADD) 中特别优选的表面活性剂是低泡非离子表面活性剂 (LFNI)，其描述在美国专利 5705464 和

5710115 中。LFNI 的含量可为 0.01%-约 10%重量, 优选约 0.1%-10%, 最优选约 0.25%-4%。ADDs 中最典型使用 LFNI, 这是由于它们赋予 ADD 产品改善的使水成片的作用(特别是从玻璃上)。它们还包含下文进一步说明的已知能使自动洗餐具中碰到的食物污垢消泡的非硅氧烷、非磷酸盐聚合物。

优选的 LFNI 包括非离子烷氧基化表面活性剂, 特别是由伯醇衍生的乙氧基化物和它们与更复杂的表面活性剂的混合物, 例如聚氧丙烯/聚氧乙烯/聚氧丙烯(PO/EO/PO) 逆嵌段聚合物, 其描述在美国专利 5705464 和 5710115 中。

还可使用的 LFNI 包括从 Olin Corp. 购得的那些 POLY-TERGENT®SLF18 非离子表面活性剂, 和具有上文讨论的熔点性质的任何可生物降解的 LFNI。

这些和其它非离子表面活性剂是现有技术公知的, 其更详细地描述在 Kirk Othmer's 的化学工艺百科全书(Encyclopedia of Chemical Technology), 第 3 版, 第 22 卷, 第 360-379 页, “表面活性剂和去污酶”中, 其在本文引用作参考。

漂白剂-本发明组合物除了包含上述漂白体系外, 还任选地包含其他漂白剂例如氯漂白剂(但对于含有酶的组合物不太优选), 其实例是现有技术公知的, 包括二氯异氰尿酸钠(“NaDCC”)和漂白催化剂。当存在时, 这些其他漂白剂一般占组合物重量的从约 1%, 优选从约 5%至约 30%, 优选至约 20%。

(a) 有机过氧化物, 特别是二酰基过氧化物

这些化合物详细地描述在 Kirk Othmer 的化学工艺百科全书(Encyclopedia of Chemical Technology), 第 17 卷, John Wiley and Sons, 1982, 第 27-90 页, 特别是第 63-72 页, 所有这些被本文引用作参考。如果使用二酰基过氧化物的话, 优选其是对去斑/成膜产生最小不利影响的一种。

(b) 含金属的漂白催化剂

本发明组合物和方法使用了用于漂白组合物中有效的含金属的漂白催化剂。优选的是含锰和钴的漂白催化剂。

一种类型的含金属的漂白催化剂是一种催化剂体系, 其包含具有所定义的漂白催化活性的过渡金属阳离子例如铜、铁、钛、钨、钨、

钼或锰阳离子；具有少的或不具有漂白催化活性的辅助金属阳离子例如锌或铝阳离子，和对催化和辅助金属阳离子具有定义的稳定常数的螯合剂，特别是乙二胺四乙酸、乙二胺四（亚甲基膦酸）和其水溶性盐。这类催化剂公开在 1982 年 2 月 2 日授权的 Bragg 的美国专利 4,430,243 中。

锰金属配合物

如果需要的话，本发明组合物可以用锰化合物来催化。该类化合物和其用量是本领域公知的，包括例如在美国专利 US5576282、US5246621、US5244594、US5194416、US5114606 和欧洲专利申请公开号 EP549271A1、EP549272A1、EP544440A2 和 EP544490A1 中公开的锰基催化剂。这些催化剂的优选实例包括 $\text{Mn}^{\text{IV}}_2(\text{u-O})_3(1, 4, 7\text{-三甲基-1, 4, 7-三氮杂环壬烷})_2(\text{PF}_6)_2$ 、 $\text{Mn}^{\text{III}}_2(\text{u-O})_1(\text{u-OAc})_2(1, 4, 7\text{-三甲基-1, 4, 7-三氮杂环壬烷})_2(\text{ClO}_4)_2$ 、 $\text{Mn}^{\text{IV}}_4(\text{u-O})_6(1, 4, 7\text{-三氮杂环壬烷})_4(\text{ClO}_4)_4$ 、 $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}_4(\text{u-O})_1(\text{u-OAc})_2(1, 4, 7\text{-三甲基-1, 4, 7-三氮杂环壬烷})_2(\text{ClO}_4)_3$ 、 $\text{Mn}^{\text{IV}}(1, 4, 7\text{-三甲基-1, 4, 7-三氮杂环壬烷})(\text{OCH}_3)_3(\text{PF}_6)$ ，和它们的混合物。其他金属基漂白催化剂包括在美国专利 US4430243、US5114611 中公开的那些。使用带有各种配合物配体的锰用于提高漂白力也在下列美国专利中被报道：US4728455、US5284944、US5246612、US5256779、US5280117、US5274147、US5153161 和 US5227084。

钴金属配合物-用于本发明的钴漂白催化剂是已知的，其描述在例如美国专利 5597936；5595967 和 5703030 和 M. L. Tobe, “过渡金属配合物的碱水解”，高等无机生物无机机理 (Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.), (1983), 2, 第 1-94 页中。适合于本发明的最优的钴催化剂是具有式 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}]T_y$ 的钴五胺乙酸盐，其中“OAc”表示乙酸根部分，“ T_y ”是阴离子，特别是氯化钴五胺乙酸 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}]\text{Cl}_2$ ；以及 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{OAc})_2$ ； $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{PF}_6)_2$ ； $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{SO}_4)$ ； $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{BF}_4)_2$ ；和 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{OAc}](\text{NO}_3)_2$ (本文“PAC”)。

这些钴催化剂容易用已知的方法制备，例如在美国专利 5597936；5595967 和 5703030；在 Tobe 文章和其中引用的参考文献；在美国专利 US4,810,410；J. Chem. Ed. (1989), 66(12), 1043-1045；无机化合物的

合成和表征, W. L. Jolly (Prentice-Hall; 1970), 第 461-463 页; 无机化学, 18, 1497-1502 (1979); 无机化学, 21, 2881-2885 (1982); 无机化学, 18, 2023-2025 (1979); 无机合成, 173-176 (1960); 和 物理化学杂志, 56, 22-25 (1952) 中讲述的。

大多环刚性配位体的过渡金属配合物-本发明组合物还适宜包括作为漂白催化剂的大多环刚性配位体的过渡金属配合物。短语“大多环刚性配位体”在下文讨论中有时缩写为“MRL”。所用量是催化有效量, 适宜为约 1ppb 或更多, 例如高至约 99.9%, 更典型地是约 0.001ppm 或更多, 优选约 0.05ppm-500ppm (其中“ppb”表示十亿分之一重量份, “ppm”表示百万分之一重量份)。

适合的过渡金属例如锰, 在下文被例举说明。“大多环”意思是 MRL 既是大环又是多环。“多环”意思是至少双环。这里所述的术语“刚性”包括“具有超结构”和“交联”。“刚性”被定义为挠曲性转变是受限的: 参见 D. H. Bush, 化学综述 (Chemical Reviews) (1993), 93, 847-860, 其在本文引用作参考。更具体地讲, 本文所述的“刚性”意思是 MRL 必须比否则相同的 (在主环中具有相同的环尺寸和类型和原子数目) 但缺少 MRL 中存在的超结构 (特别是连接部分, 或优选交联部分) 的大环 (“母体大环”) 有可测定的更强的刚性。在测定具有和不具有超结构的大环的对比刚性中, 本专业人员使用大环的游离形式 (不是结合金属的形式)。已知可使用刚性来比较大环; 测定、测量或比较刚性的适合方法包括计算方法 (参见例如 Zimmer, 化学综述 (Chemical Reviews) (1995), 95 (38), 2629-2648 或 Hancock 等, 无机 Chimica Acta, (1989), 164, 73-84)。

本发明优选的 MRL 是特殊类型的交联的超刚性配位体。“交联”非限制性地说明在以下的 1.11 中。在 1.11 中, 交联是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 部分, 其桥连该示例结构中的 N^1 和 N^8 。通过对比, “同侧的”桥连, 例如若横跨 1.11 中的 N^1 和 N^{12} 加入的一个桥连, 其不能充分地构成“交联”, 因此不是优选的。

刚性配位体配合物中的适合金属包括 Mn(II)、Mn(III)、Mn(IV)、Mn(V)、Fe(II)、Fe(III)、Fe(IV)、Co(I)、Co(II)、Co(III)、Ni(I)、Ni(II)、Ni(III)、Cu(I)、Cu(II)、Cu(III)、Cr(II)、Cr(III)、Cr(IV)、Cr(V)、Cr(VI)、V(III)、V(IV)、V(V)、Mo(IV)、Mo(V)、Mo(VI)、W(IV)、

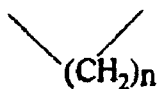
W(V)、W(VI)、Pd(II)、Ru(II)、Ru(III)和 Ru(IV)。本发明过渡金属漂白催化剂中优选的过渡金属包括锰、铁和铬。

更一般地是，本发明 MRL (和相应的过渡金属催化剂) 适宜包含：

- (a) 至少一个包含 4 个或更多个杂原子的主要的大环；和
- (b) 能够增强大环刚性的共价连接的非金属超结构，优选选自：
 - (i) 桥连超结构，例如连接部分；
 - (ii) 交联超结构，例如交联的连接部分；和
 - (iii) 它们的组合。

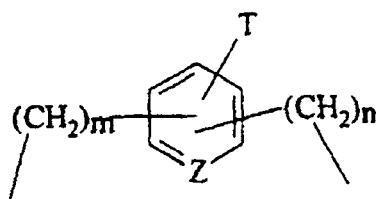
本文所述的术语“超结构”如在 Busch 等的文章中所定义，参见例如 Busch 在“化学综述”中的文章。

本文优选的超结构不仅增强了母体大环的刚性，而且还有助于大环的折叠，使得其与缝隙处的金属配位。适合的超结构明显可以是简单的，例如可使用诸如以下式 1 和式 2 中说明的任何连接部分：



式 1

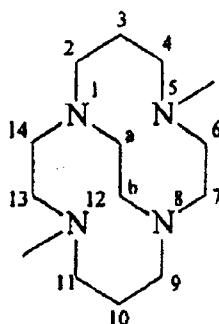
其中 n 是整数，例如为 2-8，优选低于 6，一般为 2-4，或



式 2

其中 m 和 n 是约 1-8 的整数，更优选 1-3；Z 是 N 或 CH；T 是相容的取代基，例如 H、烷基、三烷基铵、卤素、硝基、磺酸根等。在 1.10 中的芳环可被饱和环代替，其中连接环的 Z 中的原子可含 N、O、S 或 C。

适合的 MRL 还非限制性地由以下化合物说明：



式 3

这是根据本发明的 MRL, 其是高度优选的交联的甲基取代的 (所有氮原子是叔氮) cyclam 的衍生物。正规地讲, 使用推广的 von Baeyer 系统, 该配位体的名称为 5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷。参见“有机化合物 IUPAC 命名法介绍指南 1993”, (A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds: Recommendations 1993), R. Panico, W.H. Powell 和 J-C Richer (编辑), Blackwell 科技出版社, 波士顿, 1993; 特别参见 R-2.4.2.1 部分。

本发明组合物适用的大环刚性配位体的过渡金属漂白催化剂一般可包括符合本发明定义的公知化合物, 以及更优选一些大量的特意指定用于本发明洗衣或清洗应用的新化合物, 由以下进行非限制说明:

二氯-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (II);

二水合-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (II) 六氟磷酸盐;

水合-羟基-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (III) 六氟磷酸盐;

二水合-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (II) 四氟硼酸盐;

二氯-5,12-二甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (III) 六氟磷酸盐;

二氯-5,12-二-正丁基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (II);

二氯-5,12-二苄基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰 (II);

二氯-5-正丁基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环 [6.6.2] 十六烷锰

(II);

二氯-5-正辛基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰

(II);

二氯-5-正丁基-12-甲基-1,5,8,12-四氮杂双环[6.6.2]十六烷锰

(II).

在实施中, 不受限制, 本发明组合物和清洗方法可被调整以在含水洗涤介质中提供约至少万万分之一份的活性漂白催化剂物质, 优选在洗涤水溶液中提供约 0.01ppm 至约 25ppm, 更优选约 0.05ppm 至约 10ppm, 最优选约 0.1ppm 至约 5ppm 漂白催化剂物质。在自动洗涤过程的洗涤水溶液中为了达到这种含量, 本发明典型的组合物按该漂白组合物重量计将包含约 0.0005% 至约 0.2%, 更优选约 0.004% 至约 0.08% 漂白催化剂, 特别是锰或钴催化剂。

(d) 其他漂白催化剂-本发明组合物可包含一种或多种其他漂白催化剂。优选的漂白催化剂是两性离子漂白催化剂, 其描述在美国专利 5576282 中, 特别是 3-(3,4-二氢异喹啉鎓)丙酸盐。其他漂白催化剂包括阳离子漂白催化剂, 其描述在美国专利 5360569、5442066、5478357、5370826、5482515、5550256 和 W095/13351, W095/13352 和 W095/13353 中。

任选的去污酶-本发明洗涤剂 and 漂白组合物还可任选地含有一种或多种类型的洗涤剂酶。这种酶可包括其他蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶和脂肪酶。这种物质是现有技术公知的并可按商品名商购。它们可以悬浮液、“颗粒”(marumes)或“小球”的形式掺入本发明非水基液体洗涤剂组合物中。另一类适合的酶包括酶在非离子表面活性剂中的浆料形式, 例如由 Novo Nordisk 按商品名“SL”销售的酶或由 Novo Nordisk 按商品名“LDP”销售的微囊包封的酶。适合的酶和其用量描述在美国专利 5576282、5705464 和 5710115 中。

对用于本发明, 酶以常规的酶小球的形式加入本发明组合物中是特别优选的。这种小球一般尺寸在约 100-1000 微米, 更优选在约 200-800 微米, 并且将悬浮在组合物的整个非水液相中。本发明组合物中的酶小球与其它酶形式相比, 就随时间推移保持酶活性而论, 发现表现出特别理想的酶稳定性。因此, 使用酶小球的组合物不需要含有常规的酶稳定剂, 例如当酶掺入含水液体洗涤剂中时必须通常使用的酶稳定剂。

然而，加入本发明组合物中的酶可以是颗粒，优选 T-颗粒形式。

本文中使用的“去污酶”指在洗衣、硬表面清洗或个人护理洗涤剂组合物中具有洗涤、去污渍或其它有益效果的任何酶。优选的洗涤酶是水解酶如蛋白酶，淀粉酶和脂肪酶。优选的用于洗衣用途的酶包括，但不局限于，蛋白酶，纤维素酶，脂肪酶和过氧化物酶。用于自动洗餐具高度优选的是淀粉酶和/或蛋白酶，包括通常商业可购得的类型和改进的类型，虽然越来越多的漂白剂经过不断的改进是可相容的，但仍保留一定程度的漂白剂失活敏感度。

适合的酶的实例包括，但不限于：半纤维素酶、过氧化物酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、脂肪酶、磷脂酶、酯酶、角质酶、果胶酶、角蛋白酶、还原酶、氧化酶、酚氧化酶、脂氧合酶、木质素酶、支链淀粉酶、单宁酶、戊聚糖酶、苹果酸酶 (malanase)、 β -葡聚糖酶、阿拉伯糖苷酶、透明质酶、软骨素酶、漆酶和公知的淀粉酶，或它们的混合物。

这种适合的酶的实例公开在美国专利 US5705464、5710115、5576282、5728671 和 5707950 中。

本发明使用的纤维素酶包括细菌和霉菌纤维素酶。优选它们具有最佳 pH 范围 5-12 和比活性高于 50CEVU (纤维素粘度单位)。适宜的纤维素酶公开在美国专利 US4,435,307, J61078384 和 W096/02653 中，其公开了分别由 *Humicola insolens*、木霉属、草根霉属和孢子丝菌属产生的霉菌纤维素酶。EP739982 描述了从新的杆菌种分离出的纤维素酶。适宜的纤维素酶还公开在 GB-A-2075028; GB-A-2095275; DE-OS-2247832 和 W095/26398 中。

这种纤维素酶的实例是由 *Humicola insolens* (灰色腐质霉变异的 *thermoidea*) 菌株，特别是腐质霉属菌株 DSM1800 产生的纤维素酶。其它适合的纤维素酶是来源于 *Humicola insolens*、具有分子量约 50KDa、等电点为 5.5 并含有 415 个氨基酸的纤维素酶，和由腐质霉属 *insolens*, DSM1800 衍生的具有纤维素酶活性的 -43kD 的内葡聚糖酶；优选的内葡聚糖酶组分具有在 W091/17243 中公开的氨基酸序列。还适合的纤维素酶是由 *Trichoderma longibrachiatum* 得到的 EGIII 纤维素酶，其描述在 Genencor 的 W094/21801 中。特别适合的纤维素酶是具有护理颜色作用的纤维素酶。这种纤维素酶的实例是在 1991 年 11 月 6 日 (Novo) 提

交的欧洲专利申请No. 91202879.2中描述的那些纤维素酶。Carezyme和Celluzyme (Novo Nordisk A/S) 是特别适用的。还参见W091/17244和W091/21801。具有护理织物和/或清洗性质的其它适合的纤维素酶描述在W096/34092、W096/17994和W095/24471中。

纤维素酶，当存在时，一般在清洗组合物中的掺入量为清洗组合物重量的0.0001%-2%纯酶。

过氧化物酶是与氧源，例如过碳酸盐、过硼酸盐、过硫酸盐、过氧化氢等以及与作为增强漂白剂分子的酚类基质结合使用。它们用于“漂白溶液”，即抑制在洗涤过程中从底物上脱落的染料或颜料迁移至洗涤溶液中的其它底物上。过氧化物酶在本文技术领域是已知的，包括例如，辣根过氧化物酶、木质素酶和卤代过氧化物酶，如氯代和溴代过氧化物酶。适合的过氧化物酶和含有过氧化物酶的洗涤剂组合物公开在，例如美国专利5705464、5710115、5576282、5728671和5707950、PCT国际申请 WO 89/099813、W089/09813和1991年11月6日申请的欧洲专利申请No. 91202882.6和1996年2月20日申请的EP96870013.8中。还适合的是漆酶。

增效剂一般占总组合物重量的0.1%-5%。优选的增效剂为取代的吩噻嗪和吩噻嗪10-吩噻嗪丙酸(PPT)、10-乙基吩噻嗪-4-羧酸(EPC)、10-吩噻嗪丙酸(POP)和10-甲基吩噻嗪(如W094/12621所述)和取代的丁香酸酯(C₃-C₅取代的烷基丁香酸酯)和苯酚。过碳酸钠或过硼酸钠是优选的过氧化氢源。

以清洗组合物重量计，清洗组合物中所述过氧化物酶的掺入量通常为0.0001-2%纯酶。

可使用酶催体系作为漂白剂。还可通过加入能在洗涤和/或漂清过程的开始或过程中产生过氧化氢的酶催体系(即酶和随之的基质)产生过氧化氢。这种酶催体系公开在1991年10月9日申请的欧洲专利申请91202655.6中。

本发明清洗组合物可包括的其它优选酶包括脂肪酶。洗涤剂可使用的适宜脂肪酶包括由假单胞菌属族中的微生物，如司徒茨氏(stutzeri)假单胞菌 ATCC 19.154 产生的那些脂肪酶，如公开在英国专利1372034中。适合的脂肪酶包括由微生物荧光假单胞菌 IAM 1057产生的与脂肪酶的抗体表现出阳性免疫交叉反应的那些脂肪酶。这种脂肪酶可由Amano

Pharmaceutical 有限公司, Nagoya, 日本买到, 商品名为脂肪酶P “Amano”, 下文称之为“Amano-P”。其他适合的商业脂肪酶包括Amano-CES, 由粘稠色杆菌(*Chromobacter viscosum*)得到的脂酶, 例如由Toyo Jozo公司, Tagata, 日本得到的粘稠色杆菌变异的lipolyticum NRRLB 3673,; 由U. S. Biochemical公司, U. S. A. 和荷兰的Disoynth公司得到的粘稠色杆菌脂酶和由唐菖蒲假单胞菌(*Pseudomonas gladioli*)得到的脂酶。特别适合的脂肪酶是诸如M1 Lipase^R和Lipomax^R(Gist-Brocades)和Lipolase^R和Lipolase Ultra^R(Novo)的脂酶, 已发现当它们与本发明组合物组合使用时是非常有效的。还适合的是由Novo Nordisk描述在EP258068、W092/05249和W095/22615和由Unilever描述在W094/03578、W095/35381和W096/00292中的脂解酶。

还适合的酶是角质酶[EC 3.1.1.50], 其被认为是一种特殊种类的脂肪酶, 称为不需要界面活化的脂肪酶。在清洗组合物中加入角质酶已被描述在例如W0-A-88/09367(Genencor); W090/09446(Plant Genetic System)和W094/14963和W094/14964(Unilever)中。

脂肪酶和/或角质酶, 当存在时, 一般在清洗组合物中的掺入量为清洗组合物重量的0.0001%-2%纯酶。

除了上述的脂肪酶外, 磷脂酶也可掺入本发明清洗组合物中。适合的磷脂酶的非限制实例包括EC 3.1.1.32磷脂酶A1; EC3.1.1.4磷脂酶A2; EC3.1.1.5溶血磷脂酶; EC3.1.4.3磷脂酶C; EC3.1.4.4磷脂酶D。可商购的磷脂酶包括从丹麦的Novo Nordisk A/S购得的LECITASE[®]和从Sigma购得的磷脂酶A2。当磷脂酶包括在本发明组合物中时, 优选还包括淀粉酶。不希望受理论的限制, 相信磷脂酶和淀粉酶的结合作用显著地去除了污渍, 特别是对油脂/油性的淀粉和浓色的污渍和污垢。优选, 磷脂酶和淀粉酶, 当存在时, 是以重量比为4500:1-1:5, 更优选50:1-1:1的纯酶掺入本发明组合物中。

适宜的蛋白酶为枯草溶菌素, 它是由枯草芽胞杆菌和地衣型芽胞杆菌的特定菌株得到(枯草溶菌素BPN和BPN')。一种适合的蛋白酶是由杆菌菌株得到, 它在pH8-12范围内具有最大活性, 它由丹麦的Novo Industries A/S公司, 下文中称为“Novo”, 开发并以ESPERASE[®]销售。这种酶和类似酶的制备描述在Novo公司的英国专利说明书GB1243784中。蛋白水解酶还包括改性的细菌丝氨酸蛋白酶, 例如在1987年4月28

日提交的欧洲专利申请序列号为87303761.8中(特别是第17、24和98页)描述的那些,其在本文被称为“蛋白酶B”,和在1986年10月29日公开的Venegas的欧洲专利申请199404中描述的那些,它们是改性的细菌丝氨酸蛋白水解酶,在本文被称为“蛋白酶A”。适合的是在本文被称为“蛋白酶C”的蛋白酶,它们是由杆菌得到的碱性丝氨酸蛋白酶的变体,其中赖氨酸取代27位置的精氨酸,酪氨酸取代104位置的缬氨酸、丝氨酸取代123位置的天冬酰胺,和丙氨酸取代274位置的苏氨酸。蛋白酶C描述在EP90915958:4中,其相应于1991年5月16日公开的W091/06637。遗传改性的变体,特别是蛋白酶C的变体也包括在本发明中。

被称为“蛋白酶D”的优选蛋白酶是如描述在美国专利5677272和W095/10591中的羧基水解酶。还适合的是描述在W095/10591中的蛋白酶的羧基水解酶变体,其氨基酸序列是通过取代位于前体酶中对应于+210位置处的多个氨基酸残基,同时结合取代以下位置处的一个或多个残基得到的: +33, +62, +67, +76, +100, +101, +103, +104, +107, +128, +129, +130, +132, +135, +156, +158, +164, +166, +167, +170, +209, +215, +217, +218, 和+222, 这里的编号位置对应于由淀粉分解芽孢杆菌得到的天然存在的枯草溶菌素或其它羧基水解酶或枯草溶菌素例如缓慢芽孢杆菌枯草溶菌素的等价的氨基酸残基(1997年6月4日申请的未结案的专利申请US60/048550和PCT国际申请序号PCT/IB98/00853)。

还适合于本发明的是描述在专利申请EP251446和W091/06637中的蛋白酶、描述在W091/02792中的蛋白酶BLAP[®]和描述在W095/23221中的它们的变体。

还参见描述在Novo的WO 9318140A中的得自杆菌NCIMB 40338的高pH蛋白酶。含有蛋白酶,一种或多种其他酶,和可逆蛋白酶抑制剂的加酶洗涤剂描述在Novo的WO 9203529A中。当需要时,如在Procter & Gamble的WO 95/07791中描述的,可以得到吸附降低和水解提高的蛋白酶。适合于本发明洗涤剂的类似胰蛋白酶的重组蛋白酶描述在Novo的WO 9425583中。其它适合的蛋白酶描述在Unilever的EP516200中。

特别适用的蛋白酶描述在PCT公开文献:W095/30010; W095/30011和W095/29979中。适合的蛋白酶可从丹麦的Novo Nordisk A/S按ESPERASE[®]、ALCALASE[®]、DURAZYM[®]、SAVINASE[®]、EVERLASE[®]和KANNASE[®]

商购，和从Genencor International（以前是荷兰的Gist-Brocades）按MAXATASE[®]、MAXACAL[®]、PROPERASE[®]和MAXAPEM[®]商购。

这种蛋白水解酶，当存在时，在本发明清洗组合物中的掺入量，按组合物的重量计，为0.0001%-2%，优选0.001%-0.2%，更优选0.005%-0.1%纯酶。

可包括淀粉酶（ α 和/或 β ）用于去除基于碳水化合物的污渍。W0/94/02597描述了掺入突变体淀粉酶的清洗组合物。还参见W095/10603。用于清洗组合物中的其它公知的淀粉酶包括 α -和 β -淀粉酶。 α -淀粉酶是现有技术已知的，包括在US5003257；EP252666；W091/00353；FR 2676456；EP285123；EP525610；EP368341和英国专利说明书1296839（Novo）中公开的那些淀粉酶。其它适合的淀粉酶是稳定性增强的淀粉酶，其描述在W094/18314和Genencor的W096/05295中；和在W095/10603中公开的由Novo Nordisk A/S购得的对直接母体进行附加修饰得到的淀粉酶变异体。还适合的是描述在EP277216中的淀粉酶。

商业 α -淀粉酶产品的实例是从Genencor购得的Purafect Ox Am[®]和Termamyl[®]，Ban[®]，Fungamyl[®]和Duramyl[®]，它们都可从Novo Nordisk A/S丹麦购得。W095/26397描述了其它适合的淀粉酶： α -淀粉酶，其特征在于通过Phadebas[®] α -淀粉酶活性实验测定，在25℃-55℃温度和pH值在8-10范围下具有比活度大于Termamyl[®]的比活度至少25%。适合的是描述在W096/23873（Novo Nordisk）中的以上酶的变体。具有改善的关于活性量和热稳定性与更高活性量组合性质的其它淀粉分解酶描述在W095/35382中。

这种淀粉分解酶，当存在时，在本发明清洗组合物中的掺入量，按该组合物的重量计，为0.0001%-2%，优选0.00018%-0.06%，更优选0.00024%-0.048%纯酶。

上述酶可以来自任何适宜的来源，如植物、动物、细菌、霉菌和酵母源。该源还可以是亲中介态或嗜极端态的（extremophilic）（嗜冷的、冷食性的、嗜热的、嗜压的、嗜碱的、嗜酸的、嗜盐的等）。可使用这些酶的纯化或非纯化形式。当今，普通的作法是通过蛋白/遗传工程技术修饰野生型酶，以便使其在本发明洗衣洗涤剂 and /或织物护理组合物中的性能最有效。例如，可修饰变体使得酶与这种组合物中通常遇到的

组分的相容性增加。另外，可修饰变体使得该酶变体的最佳pH、漂白或螯合稳定性、催化活性等适合于特定的清洗应用。

特别是，在漂白剂稳定的情况下，应将注意力集中在对氧化敏感的氨基酸上和使表面活性剂相容的表面电荷上。这种酶的等电点可通过取代一些带电荷的氨基酸而改变，例如等电点的增加可有助于改善与阴离子表面活性剂的相容性。酶稳定性的增强还可通过产生例如附加的盐桥键和强化钙的结合部位以增加螯合剂的稳定性来实现。

这些任选的去污酶，当存在时，一般在清洗组合物中的掺入量为清洗组合物重量的0.0001%至2%纯酶。该酶可作为独立的单一组分加入（含有一种酶的丸、粒、稳定的液体等…）或作为两种或多种酶的混合物加入（例如复合颗粒）。

可加入的其它适合的洗涤剂组分是酶氧化清除剂。这种酶氧化清除剂的实例是乙氧基化的四亚乙基多胺。

各种酶物质和将它们掺入合成洗涤剂组合物中的方法还公开在 Genencor International 的 WO 9307263 和 WO 9307260, WO 8908694, 和 1971 年 1 月 5 日授权的 McCarty 等人的美国专利 US3553139 中。一些酶还公开在美国专利 US4101457 和美国专利 US4507219 中。用于液体洗涤剂配方的酶物质和它们掺入到这些配方中的方法公开在美国专利 US4261868 中。

酶稳定剂-用于洗涤剂中的酶可用各种技术使其稳定化。酶稳定化技术公开并举例说明在美国专利 US3600319, EP199405 和 EP200586 中。酶稳定体系也描述在例如美国专利 US3519570 中。产生蛋白酶、木聚糖酶和纤维素酶的有用的杆菌 AC13 描述在 WO 9401532A 中。本发明使用的酶可通过在成品组合物中存在钙和/或镁离子的水溶性源，以给酶提供这种离子而使酶稳定。适合的酶稳定剂和其用量描述在美国专利 5705464, 5710115 和 5576282 中。

助洗剂-本文描述的洗涤剂和漂白组合物优选包含一种或多种洗涤剂助洗剂或助洗剂体系。当存在助洗剂时，组合物中一般包含至少约1%的助洗剂，优选从约5%，更优选从约10%-80%，优选至约50%，更优选至约30%的洗涤剂助洗剂。但这不意味着排除更低和更高含量的助洗剂。

用于本文描述的洗涤剂和漂白组合物，特别是洗餐具组合物中的优选助洗剂包括，但不限于水溶性助洗剂化合物（例如多羧酸盐）如美国

专利5695679、5705464和5710115中所述。其他适合的多羧酸盐公开在美国专利4144226、3308067和3723322中。优选的多羧酸盐是每分子含有多至三个羧基的羟基羧酸盐，更具体地是柠檬酸盐。

无机或含磷助洗剂包括，但不局限于：以下的碱金属，铵和烷醇铵盐：聚磷酸盐（例如三聚磷酸盐，焦磷酸盐，和玻璃状聚合的偏磷酸盐）、膦酸盐（参见例如美国专利3159581；3213030；3422021；3400148和3422137）、肌醇六磷酸、硅酸盐、碳酸盐（包括碳酸氢盐和倍半碳酸盐）、硫酸盐和硅铝酸盐。

但是，在某些地区需要非磷助洗剂。重要的是，甚至在所谓的“弱”助洗剂（与磷酸盐比较）如柠檬酸盐存在下，或在使用沸石或层状硅酸盐助洗剂时可发生的所谓“低复配”情况下，本发明组合物的性能出乎意料地好。

适合的硅酸盐包括 $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ 比为约1.0-2.8，优选约1.6-2.4，最优选约2.0的水溶性硅酸钠。硅酸盐可以是无水盐或水合盐的形式。 $\text{SiO}_2:\text{Na}_2\text{O}$ 比为2.0的硅酸钠是最优选的。硅酸盐，当存在时，优选在本文描述的洗涤剂 and 漂白组合物中的含量为组合物重量的约5%-50%，更优选约10%-40%。

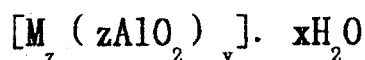
适用于洗涤剂和漂白组合物，特别是颗粒洗涤剂组合物中的部分可溶性或不溶性的助洗剂化合物包括，但不限于：结晶层状硅酸盐，特别是结晶层状硅酸钠（部分水溶性）如美国专利4664839中所述和铝硅酸钠（水不溶性）。当存在于洗涤剂和漂白组合物中时，这些助洗剂的含量一般为组合物重量的约1%-80%，优选约10%-70%，最优选约20%-60%。

本文所述组合物中可使用具有通式： $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$ 的结晶层状硅酸钠，其中M为钠或氢，x为约1.9至约4的数值，优选为约2至约4，最优选为2，y为约0至约20的数值，优选为0。该类结晶层状硅酸钠公开在EP-A-0164514中，它们的制备方法公开在DE-A-3417649和DE-A-3742043中。最优选的物质是从Hoechst AG按NaSKS-6购得的 $\delta\text{-Na}_2\text{SiO}_5$ （在本文中通常缩写为“SKS-6”）。不象沸石助洗剂，Na SKS-6硅酸盐助洗剂不含铝。NaSKS-6是具有 $\delta\text{-Na}_2\text{SiO}_5$ 形态学形式的层状硅酸盐。SKS-6是本文所述组合物中使用的高度优选的层状硅酸盐，但本文所述组合物中也可以使用这样其它的层状硅酸盐，如那些具有通式 $\text{NaMSi}_x\text{O}_{2x+1} \cdot y\text{H}_2\text{O}$ 的层状硅酸盐，其中M为钠或氢，x为1.9至4的数值，

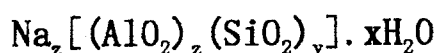
优选为2, y 为0至20的数值, 优选为0. 从Hoechst购得的各种其它层状硅酸盐包括NaSKS-5, NaSKS-7, 和NaSKS-11, 它们是以 α 、 β 和 γ 形式. 如上面所提到的, δ - Na_2SiO_5 (NaSKS-6形式) 是本文中最优选使用的. 其它的硅酸盐也是有用的, 例如硅酸镁, 其可作为颗粒配方的松脆剂、作为氧漂白剂的稳定剂和作为控泡体系的组分.

结晶层状硅酸钠材料优选作为与固体水溶性的可电离材料的紧密混合物颗粒形式存在于颗粒洗涤剂组合物中. 固体水溶性的可电离材料优选选自有机酸、有机和无机酸盐和其混合物.

硅铝酸盐助洗剂在最通常市售的重垢型颗粒洗涤剂组合物中最重要, 并且也可以是液体洗涤剂配方中重要的助洗剂组分. 硅铝酸盐助洗剂具有下列经验式:

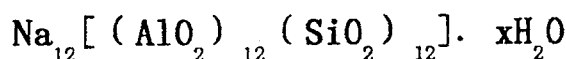


其中 z 和 y 为至少6的整数, z 与 y 的摩尔比在1.0至约0.5的范围内, x 是约15至约264的整数. 优选硅铝酸盐助洗剂是具有以下单元晶胞的硅铝酸盐沸石:

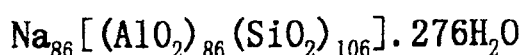


其中 z 和 y 至少为6; z 与 y 的摩尔比为1.0至0.5, x 至少为5, 优选7.5-276, 更优选10-264. 硅铝酸盐助洗剂优选是水合形式, 优选是晶体, 其含有约10%-28%, 更优选约18%-22%结合水.

这些硅铝酸盐离子交换材料可以是结晶或无定形结构, 并且可以是天然产生的硅铝酸盐或是合成得到的. 制备硅铝酸盐离子交换材料的方法揭示于美国专利US3985669中. 用于本文的优选的合成结晶硅铝酸盐离子交换材料可以按注册商标为沸石A、沸石B、沸石P、沸石X、沸石MAP和沸石HS和其混合物购买到. 在特别优选的实施方案中, 结晶硅铝酸盐离子交换材料具有下式:



其中 x 为约20至约30, 尤其是约27. 该物质称为沸石A. 脱水沸石($x=0-10$)也可以在本文中使用. 硅铝酸盐优选具有直径为约0.1-10微米的粒度. 沸石X具有式:



柠檬酸盐助洗剂, 例如, 柠檬酸和其可溶性盐(特别是钠盐)是重垢液体洗涤剂配方中特别重要的多羧酸盐助洗剂, 原因是它们可由再生

资源得到和它们具有生物降解能力。柠檬酸盐也可用于颗粒组合物中，特别是与沸石和/或层状硅酸盐助洗剂结合使用。氧二琥珀酸盐在这种组合物和混合物中也特别有用。

适合于本文所述洗涤剂组合物的还有在美国专利US4566984中公开的3, 3-二羧基-4-氧杂-1, 6-己二酸盐以及有关的化合物。有用的琥珀酸助洗剂包括C₅-C₂₀烷基和链烯基琥珀酸和它们的盐。这种类型中特别优选的化合物是十二碳烯基琥珀酸。琥珀酸盐助洗剂的具体实例包括：月桂基琥珀酸盐，肉豆蔻基琥珀酸盐、棕榈基琥珀酸盐、2-十二碳烯基琥珀酸盐（优选），2-十五碳烯基琥珀酸盐等。月桂基琥珀酸盐是该组中优选的助洗剂，并被描述在1986年11月5日公开的欧洲专利申请86200690.5/0200263中。

脂肪酸，例如C₁₂-C₁₈单羧酸，也可以单独地掺入组合物中，或与前述的助洗剂，尤其是柠檬酸盐和/或琥珀酸盐助洗剂结合掺入组合物中，以提供额外的助洗剂活性。使用脂肪酸一般会导致消弱起泡，这是配方师应当考虑的。

分散剂-可将一种或多种适合的聚亚烷基亚胺分散剂掺入本发明清洗组合物中。这种适合的分散剂的实例可参见欧洲专利申请111965、111984和112592；美国专利4597898、4548744和5565145。然而，在本发明洗衣组合物中可使用任何适合的粘土/污垢分散剂或抗再沉积剂。

此外，包括聚合多羧酸盐和聚乙二醇的聚合分散剂也适合用于本发明中。可以经聚合形成适合的聚合多羧酸盐的不饱和单体酸包括丙烯酸，马来酸（或马来酸酐），富马酸，衣康酸，乌头酸，中康酸，柠康酸和亚甲基丙二酸。尤其适合的聚合多羧酸盐可以从丙烯酸得到。可以用于本发明中的该类基于丙烯酸的聚合物是聚合丙烯酸的水溶性盐。以酸形式存在的该类聚合物的平均分子量优选为约2000-10000，更优选为约4000-7000，最优选为约4000-5000。该类丙烯酸聚合物的水溶性盐可以包括，例如，碱金属盐，铵盐和取代铵盐。该类可溶的聚合物是已知的材料。该类聚丙烯酸盐在洗涤剂组合物中的应用公开在例如美国专利US3308067中。

基于丙烯酸/马来酸的共聚物也可以用作分散/抗沉积剂的优选组分。这类物质包括丙烯酸和马来酸共聚物的水溶性盐。以酸形式存在的该类共聚物的平均分子量优选为约2000-100000，更优选为约5000-

75000, 最优选为约7000-65000. 在该类共聚物中丙烯酸盐部分与马来酸盐部分的比率一般为约30: 1至约1: 1, 更优选约10: 1至2: 1. 这类丙烯酸/马来酸共聚物的水溶性盐可以包括, 例如, 碱金属盐, 铵盐和取代铵盐. 这类可溶性丙烯酸盐/马来酸盐共聚物是在1982年12月15日公开的欧洲专利申请EP66915以及在1986年9月3日公开的欧洲专利EP193360中描述的已知物质, 后者还描述了包括丙烯酸羟基丙基酯的该类聚合物. 另一类有用的分散剂包括马来酸/丙烯酸/乙烯基醇三元共聚物. 该材料也在EP193160中被公开, 包括, 例如, 45/45/10的丙烯酸/马来酸/乙烯基醇三元共聚物.

另一类可以被包括的聚合材料是聚乙二醇(PEG). PEG除了可以作为去除粘土污垢-抗再沉积剂之外还具有分散剂的性能. 作为该用途的聚乙二醇的平均分子量一般为约500-约100000, 优选为约1000-约50000, 更优选为约1500-约10000.

本发明也可以使用聚天冬氨酸盐和聚谷氨酸盐分散剂, 尤其是与沸石助洗剂结合使用. 分散剂如聚天冬氨酸盐优选具有约10000的分子量(平均).

污垢解脱剂-本发明组合物可任选地包含一种或多种污垢解脱剂. 如果使用的话, 污垢解脱剂一般占本发明组合物重量的约0.01%, 优选从约0.1%, 更优选从约0.2%至约10%, 优选至约5%, 更优选至3%. 适合的污垢解脱聚合物的非限制实例公开在美国专利5728671; 5691298; 5599782; 5415807; 5182043; 4956447; 4976879; 4968451; 4925577; 4861512; 4877896; 4771730; 4711730、4721580; 4000093; 3959230和3893929; 和欧洲专利申请0219048.

另外适合的污垢解脱剂描述在美国专利US4201824; US4240918; US4525524; US4579681; US4240918; US4787989; EP279134A; EP457205A; 和DE2335044.

螯合剂-本发明组合物还可以任选地含有起螯合否则会使漂白剂失活的金属离子和金属杂质作用的螯合剂. 有用的螯合剂可包括氨基羧酸盐, 膦酸盐、氨基膦酸盐, 多官能取代的芳族螯合剂及其混合物. 适合的螯合剂的进一步实例和其用量描述在美国专利US5705454、5710115、5728671和5576282中.

本发明组合物还可含有水溶性的甲基甘氨酸二乙酸 (MGDA) 盐 (或酸形式) 作为螯合剂, 或作为例如不溶性的助洗剂如沸石、层状硅酸盐等的有用的辅助助洗剂。

如果使用螯合剂, 则这些螯合剂一般占本发明洗涤剂组合物重量的约0.1%-15%, 更优选约0.1%-3.0%。

抑泡剂-另一种任选的组分是抑泡剂, 示例为聚硅氧烷, 和二氧化硅-聚硅氧烷混合物。适合的抑泡剂的实例公开在美国专利US5707950和5728671中。这些抑泡剂使用量一般为组合物重量的0.001%至2%, 优选0.01%至1%。

柔软剂-织物柔软剂也可掺入本发明洗衣洗涤剂组合物中。无机柔软剂的示例有公开在GB-A-1400898和USP 5, 019, 292中的绿土类。有机柔软剂包括如公开在GB-A 1 514 276和EP-B 0 011 340中的水不溶性叔胺和公开在EP-B-0 026 527和EP-B- 0 026 528中前者叔胺与单C12-C14季铵盐的混合物, 以及如公开在EP-B-0242 919中的双长链酰胺。用于织物柔软剂体系的其它适合的有机组分包括公开在EP-A-0299 575和0 313 146中的高分子量聚环氧乙烷物质。

特别适合的织物柔软剂公开在美国专利US5707950和5728673中。

绿土的含量通常为2%至20%, 更优选5%至15%重量, 该物质是作为干混组分加入到配方的其余组分中。有机织物柔软剂例如水不溶性叔胺或双长链的酰胺物质的掺入量是0.5%至5%重量, 通常是1%至3%重量, 而高分子量聚环氧乙烷物质和水溶性阳离子物质的加入量是0.1%至2%, 通常是0.15%至1.5%重量。虽然在某些情况下, 这些物质作为干混颗粒加入或将它们作为熔融液体喷到组合物的其它固体组分上可能更为方便, 但通常将它们加入组合物的喷雾干燥的部分中。

如描述在 EP-A-040562 和 EP-A-239910 中的生物可降解的季铵化合物已作为传统使用的氯化物和甲基硫酸化双长链烷基铵的替代物而存在。

用于季铵化合物和胺前体的与柔软剂相容的阴离子的非限制实例包括氯或甲基硫酸根。

染料转移抑制作用-本发明洗涤剂组合物还可包括用于抑制在包含带色织物的洗涤织物和调理操作过程中碰到的溶解和悬浮的染料从一种织物转移至另一种织物上的化合物。

聚合染料转移抑制剂

本发明洗涤剂组合物还可包含0.001%至10%，优选0.01%至2%，更优选0.05%至1%重量聚合的染料转移抑制剂。通常将所说的聚合染料转移抑制剂掺入洗涤剂组合物中是为了抑制染料从带色的织物上转移至同时洗涤的织物上。在从带色织物洗涤下来的短效染料有机会接触洗涤中的其它物品之前，这些聚合物具有将其螯合或吸附的能力。

特别适合的聚合染料转移抑制剂是聚胺N-氧化物聚合物、N-乙烯基吡咯烷酮和N-乙烯基咪唑的共聚物、聚乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚乙烯基噁唑烷酮和聚乙烯基咪唑或它们的混合物。这种染料转移抑制剂的实例公开在美国专利US5707950和US5707951中。

其他适合的染料转移抑制剂包括，但不限于交联的聚合物。交联聚合物是其骨架互连至一定程度的聚合物；这些键可以是化学或物理性的，在骨架上或在支链上可具有活性基团。交联聚合物已被描述在聚合物科技杂志，第22卷，第1035-1039页。

在一种实施方案中，交联聚合物是以这样的方法制备的，即它们形成三维的刚性结构，其能将染料捕集在由三维结构形成的孔中。在另一实施方案中，交联聚合物通过溶胀捕集染料。这种交联聚合物被描述在未结案的欧洲专利申请94870213.9中。

另外，这种聚合物还增强了本发明酶的性能。

pH和缓冲变化-本文描述的许多洗涤剂 and 漂白组合物将被缓冲，即在酸性污垢存在下，它们相对耐pH降低。然而，本发明其他组合物可具有优异的低缓冲能力或可基本上不被缓冲。在建议使用值下控制或变化pH的技术更通常是包括不仅使用缓冲剂，而且使用其他的碱、酸、pH调节体系、双室容器等，它们是本领域技术人员公知的。

本发明优选的ADD组合物包含pH调节组分，其选自水溶性碱性无机盐和水溶性有机或无机助洗剂，如描述在美国专利5705464和5710115中。

材料护理剂-优选的ADD组合物可含有作为腐蚀抑制剂和/或防霉暗助剂有效的一种或多种材料护理剂，如描述在美国专利5705464、5710115和5646101中。

当存在时，这种保护材料优选掺入低量，例如为ADD组合物的约0.01%-5%。

其他材料-任选地包括在本发明组合物中的去污组分或辅助材料可包括有助于或增强清洗性能、对被清洗的底物的处理或用于改善组合物的美学性的一种或多种材料。还可包括在本发明组合物中的辅助物，是以它们常规技术确定的含量使用（一般，辅助材料总共占组合物重量约30%-99.9%，优选约70%-95%），包括其他活性组分例如非磷酸盐助洗剂、色粒、银器护理剂、防霉剂和/或防腐剂、染料、填料、杀菌剂、碱源、水溶助长剂、抗氧化剂、香料、增溶剂、载体、加工助剂、颜料和pH控制剂，其描述在美国专利5705464、5710115、5698504、5695679、5686014和5646101中。

清洗方法-除了本文描述的清洗织物、餐具和其他硬表面和由个人清洗人体部分的方法外，本发明还包括已带有污垢或污渍的织物的洗涤预处理方法，包括在使用常规洗涤剂溶液洗涤这种织物之前，将所述污渍和/或污垢直接与高浓度形式的上述漂白组合物接触。优选，在用常规方法洗涤预处理过的污垢/污渍底物之前，将漂白组合物与污垢/污渍保持接触约30秒-24小时。更优选，预处理时间为约1-180分钟。

以下实施例是用于说明本发明组合物，但不必然用于限制或另外定义本发明的范围。

在所有以下实施例中，蛋白酶¹意思是指包含在对应于淀粉分解芽孢杆菌枯草溶菌素的101G/103A/104I/159D/232V/236H/245R/248D/252K位置处用另一种天然产生的氨基酸残基取代所述位置的氨基酸残基的蛋白酶变体。蛋白酶¹可以用本发明任何其他附加的蛋白酶变体代替，在以下实施例中得到明显相似的结果。

在本发明清洗组合物实施例中，蛋白酶¹的酶含量是按纯酶占总组合物重量表示，其他酶含量是按原料占总组合物重量表示，和除非另外说明，其他组分按占总组合物重量表示。

另外，在以下实施例中，使用本领域普通技术人员公知的一些缩写，其与本文公开内容一致。

实施例1
粒状自动洗餐具组合物

| <u>组分</u> | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> |
|-----------------------|----------|----------|----------|
| 柠檬酸 | 15.0 | - | - |
| 柠檬酸盐 | 4.0 | 29.0 | 15.0 |
| 丙烯酸盐/异丁烯酸盐共聚物 | 6.0 | - | 6.0 |
| 丙烯酸马来酸共聚物 | - | 3.7 | - |
| 干添加剂碳酸盐 | 9.0 | - | 20.0 |
| 碱金属硅酸盐 | 8.5 | 17.0 | 9.0 |
| 石蜡 | - | 0.5 | - |
| 苯并三唑 | - | 0.3 | - |
| Termamyl 60T | 1.6 | 1.6 | 1.6 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.2 | 0.1 | 0.06 |
| 过碳酸盐 (AvO) | 1.5 | - | - |
| 过硼酸盐一水合物 | - | 0.3 | 1.5 |
| 过硼酸盐四水合物 | - | 0.9 | - |
| NOBS | - | - | 2.40 |
| TAED | 3.8 | 4.4 | - |
| 二亚乙基三胺五甲基膦酸 (Mg 盐) | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| 烷基乙氧基硫酸盐 - 3摩尔乙氧基化 | 3.0 | - | - |
| 烷基乙氧基丙氧基非离子表面活性剂 | - | 1.5 | - |
| 抑泡剂 | 2.0 | - | - |
| Olin SLF 18 非离子表面活性剂 | - | - | 2.0 |
| 硫酸盐(平衡量至100%) | | | |

实施例2

根据本发明的密实型高密度 (0.96Kg/l) 洗餐具洗涤剂组合物A-F:

| 组分 | A | B | C | D | E | F |
|------------------|-------|------|-------|------|-------|------|
| STPP | - | 51.4 | 51.4 | - | - | 44.3 |
| 柠檬酸盐 | 17.05 | - | - | 49.6 | 40.2 | - |
| 碳酸盐 | 17.50 | 14.0 | 20.0 | - | 8.0 | 33.6 |
| 碳酸氢盐 | - | - | - | 26.0 | - | - |
| 硅酸盐 | 14.81 | 15.0 | 8.0 | - | 25.0 | 3.6 |
| 偏硅酸盐 | 2.50 | 4.5 | 4.5 | - | - | - |
| PB1 | 9.74 | 7.79 | 7.79 | - | - | - |
| PB4 | - | - | - | 9.6 | - | - |
| 过碳酸盐 | - | - | - | - | 11.8 | 4.8 |
| 非离子型表面活性剂 | 2.00 | 1.50 | 1.50 | 2.6 | 1.9 | 5.9 |
| TAED | 2.39 | - | - | 3.8 | - | 1.4 |
| HEDP | 1.00 | - | - | - | - | - |
| DETPMP | 0.65 | - | - | - | - | - |
| Mn TACN | - | - | - | - | 0.008 | - |
| NOBS | - | 2.40 | - | - | - | - |
| PAAC | - | - | 0.008 | - | - | - |
| 石蜡 | 0.50 | 0.38 | 0.38 | 0.6 | - | - |
| 蛋白酶 ¹ | 0.1 | 0.06 | 0.05 | 0.03 | 0.07 | 0.01 |
| 淀粉酶 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 2.6 | 2.1 | 0.8 |
| BTA | 0.30 | 0.22 | 0.22 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 多羧酸盐 | 6.0 | - | - | - | 4.2 | 0.9 |
| 香料 | 0.2 | 0.12 | 0.12 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 硫酸盐/水 | 20.57 | 1.97 | 2.97 | 3.6 | 4.5 | 3.9 |
| pH(1% 溶液) | 11.0 | 11.0 | 11.3 | 9.6 | 10.8 | 10.9 |

实施例3

根据本发明的堆密度为1.02Kg/l的粒状洗餐具洗涤剂组合物实施例

A-F:

| 组分 | A | B | C | D | E | F |
|------|-------|-------|------|-------|------|------|
| STPP | 30.00 | 33.5 | 27.9 | 29.62 | 33.8 | 22.0 |
| 碳酸盐 | 30.50 | 30.50 | 30.5 | 23.00 | 34.5 | 45.0 |
| 硅酸盐 | 7.40 | 7.50 | 12.6 | 13.3 | 3.2 | 6.2 |

| | | | | | | |
|------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| 偏硅酸盐 | - | 4.5 | | | | |
| 过碳酸盐 | - | - | | - | 4.0 | |
| PBI | 4.4 | 4.5 | 4.3 | - | - | |
| NaDCC | - | - | | 2.00 | - | 0.9 |
| 非离子型表面活性剂 | 1.0 | 0.75 | 1.0 | 1.90 | 0.7 | 0.5 |
| TAED | 1.00 | - | | - | - | |
| NOBS | - | - | - | - | 2.0 | - |
| PAAC | - | 0.004 | | - | - | |
| 石蜡 | 0.25 | 0.25 | | - | - | |
| 蛋白酶 ¹ | 0.05 | 0.06 | 0.025 | 0.1 | 0.02 | 0.07 |
| 淀粉酶 | 0.38 | 0.64 | 0.46 | - | 0.6 | |
| BTA | 0.15 | 0.15 | | - | 0.2 | |
| 香料 | 0.2 | 0.2 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | |
| 硫酸盐/水 | 23.45 | 16.87 | 22.26 | 30.08 | 21.7 | 25.4 |
| pH(1% 溶液) | 10.80 | 11.3 | 11.0 | 10.70 | 11.5 | 10.9 |

实施例4

使用标准12头旋转压型机，在压力13KN/cm²下挤压粒状洗餐具洗涤剂组合物来制备根据本发明的片状洗涤剂组合物实施例A-H:

| 组分 | A | B | C | D | E | F | G | H |
|------------------|------|------|-------|-------|-------|------|-----|-----|
| STPP | - | 48.8 | 54.7 | 38.2 | - | 52.4 | 56. | 36. |
| 柠檬酸盐 | 20.0 | - | - | - | 35.9 | - | - | - |
| 碳酸盐 | 20.0 | 5.0 | 14.0 | 15.4 | 8.0 | 23.0 | 20. | 28. |
| 硅酸盐 | 15.0 | 14.8 | 15.0 | 12.6 | 23.4 | 2.9 | 4.3 | 4.2 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.05 | 0.09 | 0.05 | 0.03 | 0.06 | 0.03 | 0.0 | 0.1 |
| 淀粉酶 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 0.85 | 1.9 | 0.4 | 2.1 | 0.3 |
| PBI | 14.3 | 7.8 | 11.7 | 12.2 | - | - | 6.7 | 8.5 |
| PB4 | - | - | - | - | 22.8 | - | 3.4 | - |
| 过碳酸盐 | - | - | - | - | - | 10.4 | - | - |
| 非离子型表面活性剂 | 1.5 | 2.0 | 2.0 | 2.2 | 1.0 | 4.2 | 4.0 | 6.5 |
| PAAC | - | - | 0.016 | 0.009 | - | - | - | - |
| MnTACN | - | - | - | - | 0.007 | - | - | - |

| | | | | | | | | |
|-----------|------|-----------|------|-------|------|------|------|------|
| TAED | 2.7 | 2.4 | - | - | - | 2.1 | 0.7 | 1.6 |
| HEDP | 1.0 | - | - | 0.93 | - | 0.4 | 0.2 | - |
| DETPMP | 0.7 | - | - | - | - | - | - | - |
| 石蜡 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 0.55 | - | - | 0.5 | - |
| BTA | 0.2 | 0.3 | 0.3 | 0.33 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | - |
| 多羧酸盐 | 4.0 | - | - | - | 4.9 | 0.6 | 0.8 | - |
| PEG | - | - | - | - | - | 2.0 | - | 2.0 |
| 甘油 | - | - | - | - | - | 0.4 | - | 0.5 |
| 香料 | - | - | - | 0.05 | 0.20 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 硫酸盐/水 | 17.4 | 14.7 | - | 15.74 | - | - | - | 11.3 |
| 片的重量 | 20g | 25g | 20g | 30g | 18g | 20g | 25g | 24.0 |
| pH(1% 溶液) | 10.7 | 10.6 0 | 10.7 | 10.7 | 10.9 | 11.2 | 11.0 | 10.8 |

实施例5

粒状织物清洗组合物

| 组分 | 实施例编号 | |
|------------------------------|-------|-------|
| | A | B |
| 直链烷基苯磺酸盐 | 11.4 | 10.70 |
| 牛油烷基磺酸盐 | 1.80 | 2.40 |
| C ₁₄₋₁₅ 烷基磺酸盐 | 3.00 | 3.10 |
| 7摩尔乙氧基化的C ₁₄₋₁₅ 醇 | 4.00 | 4.00 |
| 11摩尔乙氧基化的牛油醇 | 1.80 | 1.80 |
| 分散剂 | 0.07 | 0.1 |
| 聚硅氧烷流体 | 0.80 | 0.80 |
| 柠檬酸三钠 | 14.00 | 15.00 |
| 柠檬酸 | 3.00 | 2.50 |
| 沸石 | 32.50 | 32.10 |
| 马来酸丙烯酸共聚物 | 5.00 | 5.00 |

| | | |
|------------------|---------|---------|
| 二亚乙基三胺五亚甲基膦酸 | 1.00 | 0.20 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.1 | 0.01 |
| 脂肪酶 | 0.36 | 0.40 |
| 淀粉酶 | 0.30 | 0.30 |
| 硅酸钠 | 2.00 | 2.50 |
| 硫酸钠 | 3.50 | 5.20 |
| 聚乙烯基吡咯烷酮 | 0.30 | 0.50 |
| 过硼酸盐 | 0.5 | 1 |
| TAED | 1.0 | - |
| NOBS | - | 1.0 |
| 苯酚磺酸盐 | 0.1 | - |
| 过氧化物酶 | 0.1 | 0.1 |
| 少量组分 | 最多至 100 | 最多至 100 |

实施例6

粒状织物清洗组合物

| 组分 | 实施例编号 | |
|--------------------------|---------|---------|
| | A | B |
| 直链C ₁₂ 烷基苯磺酸钠 | 6.5 | 8.0 |
| 硫酸钠 | 15.0 | 18.0 |
| 沸石 A | 26.0 | 22.0 |
| 次氨基三乙酸钠 | 5.0 | 5.0 |
| 聚乙烯基吡咯烷酮 | 0.5 | 0.7 |
| TAED | 3.0 | - |
| NOBS | - | 2.4 |
| 硼酸 | 4.0 | - |
| 过硼酸盐 | 0.5 | 1 |
| 苯酚磺酸盐 | 0.1 | - |
| 蛋白酶 ¹ | 0.02 | 0.05 |
| 填料 (例如硅酸盐; 碳酸盐; 香料; 水) | 最多至 100 | 最多至 100 |

实施例7密实型粒状织物清洗组合物

| <u>组分</u> | <u>重量%</u> |
|--|------------|
| 烷基硫酸盐 | 8.0 |
| 烷基乙氧基硫酸盐 | 2.0 |
| 3和7摩尔乙氧基化的C25和C45醇混合物 | 6.0 |
| 多羟基脂肪酸酰胺 | 2.5 |
| 沸石 | 17.0 |
| 层状硅酸盐/柠檬酸盐 | 16.0 |
| 碳酸盐 | 7.0 |
| 马来酸丙烯酸共聚物 | 5.0 |
| 污垢解脱聚合物 | 0.4 |
| 羧甲基纤维素 | 0.4 |
| 聚(4-乙烯基吡啶)-N-氧化物 | 0.1 |
| 乙烯基咪唑和乙烯基吡咯烷酮的共聚物 | 0.1 |
| PEG2000 | 0.2 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.03 |
| 脂肪酶 | 0.2 |
| 纤维素酶 | 0.2 |
| TAED | 6.0 |
| 过碳酸盐 | 22.0 |
| 乙二胺二琥珀酸 | 0.3 |
| 抑泡剂 | 3.5 |
| 4,4'-二(2-吗啉代-4-苯胺基-s-三嗪-6-基氨基)芪-2,2'-二磺酸二钠 | 0.25 |
| 4,4'-二(2-磺基苯乙烯基)联苯二钠 | 0.05 |
| 水、香料和少量组分 | 最多至100 |

实施例8粒状织物清洗组合物

| <u>组分</u> | <u>重量%</u> |
|--|------------|
| 直链烷基苯磺酸盐 | 7.6 |
| C ₁₆ -C ₁₈ 烷基硫酸盐 | 1.3 |

| | |
|------------------------------|--------|
| 7摩尔乙氧基化的C ₁₄₋₁₅ 醇 | 4.0 |
| 椰子烷基二甲基羟乙基氯化铵 | 1.4 |
| 分散剂 | 0.07 |
| 聚硅氧烷流体 | 0.8 |
| 柠檬酸三钠 | 5.0 |
| 沸石 4A | 15.0 |
| 马来酸丙烯酸共聚物 | 4.0 |
| 二亚乙基三胺五亚甲基膦酸 | 0.4 |
| 过硼酸盐 | 15.0 |
| TAED | 5.0 |
| 绿土 | 10.0 |
| 聚(氧乙烯)(MW 300,000) | 0.3 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.02 |
| 脂肪酶 | 0.2 |
| 淀粉酶 | 0.3 |
| 纤维素酶 | 0.2 |
| 硅酸钠 | 3.0 |
| 碳酸钠 | 10.0 |
| 羧甲基纤维素 | 0.2 |
| 增白剂 | 0.2 |
| 水、香料和少量组分 | 最多至100 |

实施例9

粒状织物清洗组合物

| <u>组分</u> | <u>重量%</u> |
|-------------------------------------|------------|
| 直链烷基苯磺酸盐 | 6.92 |
| 牛油烷基硫酸盐 | 2.05 |
| 7摩尔乙氧基化的C ₁₄₋₁₅ 醇 | 4.4 |
| 3摩尔乙氧基化的C ₁₂₋₁₅ 烷基乙氧基硫酸盐 | 0.16 |
| 沸石 | 20.2 |
| 柠檬酸盐 | 5.5 |
| 碳酸盐 | 15.4 |
| 硅酸盐 | 3.0 |

| | |
|------------------|--------|
| 马来酸丙烯酸共聚物 | 4.0 |
| 羧甲基纤维素 | 0.31 |
| 污垢解脱聚合物 | 0.30 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.1 |
| 脂肪酶 | 0.36 |
| 纤维素酶 | 0.13 |
| 过硼酸盐四水合物 | 11.64 |
| 过硼酸盐一水合物 | 8.7 |
| TAED | 5.0 |
| 二亚乙基三胺五亚甲基膦酸 | 0.38 |
| 硫酸镁 | 0.40 |
| 增白剂 | 0.19 |
| 香料、聚硅氧烷、抑泡剂 | 0.85 |
| 少量组分 | 最多至100 |

实施例10

粒状织物清洗组合物

| <u>组分</u> | A | B | C |
|--------------------|-------|-------|-------|
| 基本颗粒组分 | | | |
| LAS/AS/AES (65/35) | 9.95 | - | - |
| LAS/AS/AES (70/30) | - | 12.05 | 7.70 |
| 硅铝酸盐 | 14.06 | 15.74 | 17.10 |
| 碳酸钠 | 11.86 | 12.74 | 13.07 |
| 硅酸钠 | 0.58 | 0.58 | 0.58 |
| NaPAA 固体 | 2.26 | 2.26 | 1.47 |
| PEG 固体 | 1.01 | 1.12 | 0.66 |
| 增白剂 | 0.17 | 0.17 | 0.11 |
| DTPA | - | - | 0.70 |
| 硫酸盐 | 5.46 | 6.64 | 4.25 |
| DC-1400 Deaerant | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| 水分 | 3.73 | 3.98 | 4.33 |
| 少量组分 | 0.31 | 0.49 | 0.31 |

B.O.T. 喷雾

| | | | |
|------------------|-------|--------|-------|
| 非离子型表面活性剂 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| 附聚物组分 | | | |
| LAS/AS (25/75) | 11.70 | 9.60 | 10.47 |
| 硅铝酸盐 | 13.73 | 11.26 | 12.28 |
| 碳酸盐 | 8.11 | 6.66 | 7.26 |
| PEG 4000 | 0.59 | 0.48 | 0.52 |
| 水分/少量组分 | 4.88 | 4.00 | 4.36 |
| 功能性添加剂 | | | |
| 碳酸钠 | 7.37 | 6.98 | 7.45 |
| 过硼酸盐 | 1.03 | 1.03 | 2.56 |
| AC 底涂层 | - | 1.00 | - |
| NOBS | - | - | 2.40 |
| 污垢解脱聚合物 | 0.41 | 0.41 | 0.31 |
| 纤维素酶 | 0.33 | 0.33 | 0.24 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.1 | 0.05 | 0.15 |
| AE-薄片 | 0.40 | 0.40 | 0.29 |
| 液体喷雾 | | | |
| 香料 | 0.42 | 0.42 | 0.42 |
| 非离子型表面活性剂喷雾剂 | 1.00 | 1.00 | 0.50 |
| 少量物质 | | 最多至100 | |

实施例11**粒状织物清洗组合物**

| | A | B |
|------------------------|------|------|
| 表面活性剂 | | |
| - Na LAS | 6.40 | - |
| - KLAS | - | 9.90 |
| - AS/AE3S | 6.40 | 4.39 |
| - TAS | 0.08 | 0.11 |
| - C24AE5 | 3.48 | - |
| - Genagen | - | 1.88 |
| - N-椰油基N-甲基 葡糖胺(直链) | 1.14 | 2.82 |

| | | |
|--------------------------------------|-------|-------|
| -C8-10 二甲基羟 乙基氯化铵 | 1.00 | 1.40 |
| 助洗剂 | | |
| - 沸石 | 20.59 | 13.39 |
| - SKS-6 | 10.84 | 10.78 |
| - 柠檬酸 | 2.00 | - |
| 缓冲剂 | | |
| - 碳酸盐 | 9.60 | 12.07 |
| - 碳酸氢盐 | 2.00 | 2.00 |
| - 硫酸盐 | 2.64 | - |
| - 硅酸盐 | 0.61 | 0.16 |
| 聚合物 | | |
| - 丙烯酸/马来酸共聚物 (Na) | 1.17 | 1.12 |
| - CMC | 0.45 | 0.24 |
| - 聚合物 | 0.34 | 0.18 |
| - 六亚甲基二胺四 -E24乙氧基化物, 用 甲基氯二季铵化 | 1.00 | 1.00 |
| 酶 | | |
| - 蛋白酶' (% 纯酶) | 0.03 | 0.03 |
| - 纤维素酶 | 0.26 | 0.26 |
| - 淀粉酶 | 0.65 | 0.73 |
| - 脂肪酶 | 0.27 | 0.15 |
| 漂白剂 | | |
| - TAED (100%) | 3.85 | 3.50 |
| - N-壬酰基-6-氨基己 酸的苯酚磺酸酯 | - | 2.75 |
| - 过碳酸盐 | 16.20 | 18.30 |
| - HEDP | 0.48 | 0.48 |
| - EDDS | 0.30 | 0.30 |
| 微量组分 | | |

| | | |
|-------------------------|-------------|---------------|
| - 苹果酸颗粒 | | 2.20 + bicarb |
| - 增白剂 15/49 | 0.077/0.014 | 0.07/0.014 |
| - 敌菁硫酸锌 | 0.0026 | 0.0026 |
| - 具有三甲基甲硅烷基封端单元的聚二甲基硅氧烷 | 0.25 | 0.24 |
| - 皂 | - | 1.00 |
| - 香料 | 0.45 | 0.55 |
| 总计 | 100 | 100 |

实施例12
粒状织物清洗组合物

| | A | B |
|----------------|------|------|
| 表面活性剂 | | |
| NaLAS | 6.8 | 0.4 |
| KLAS | - | 10.9 |
| FAS | 0.9 | 0.1 |
| AS | 0.6 | 1.5 |
| C25AE3S | 0.1 | - |
| AES | 4.2 | - |
| N-椰油基N-甲基葡糖胺 | - | 1.8 |
| | - | 1.2 |
| C8-10二甲基羟乙基氯化铵 | - | 1.0 |
| 助洗剂 | | |
| SKS-6 | 3.3 | 9.0 |
| 沸石 | 17.2 | 18.9 |
| 柠檬酸 | 1.5 | - |
| 缓冲剂 | | |
| 碳酸盐 | 21.1 | 15.0 |
| 碳酸氢钠 | - | 2.6 |
| 硫酸盐 | 15.2 | 5.5 |
| 苹果酸 | - | 2.9 |
| 硅酸盐 | 0.1 | - |
| 聚合物 | | |

| | | |
|--------------------------------|--------|--------|
| 丙烯酸/马来酸共聚物 (Na) | 2.2 | 0.9 |
| 六亚甲基二胺四-E24乙氧 基化物, 用甲基氯二季铵化 | 0.5 | 0.7 |
| 聚合物 | 0.1 | 0.1 |
| CMC | 0.2 | 0.1 |
| 酶 | | |
| 蛋白酶 ¹ (% 纯酶) | 0.02 | 0.05 |
| 脂肪酶 | 0.18 | 0.14 |
| 淀粉酶 | 0.64 | 0.73 |
| 纤维素酶 | 0.13 | 0.26 |
| 漂白剂 | | |
| TAED | 2.2 | 2.5 |
| N-壬酰基-6-氨基己酸的苯酚 磺酸酯 | - | 1.96 |
| 过碳酸钠 | - | 13.1 |
| PB4 | 15.6 | - |
| EDDS | 0.17 | 0.21 |
| MgSO ₄ | 0.35 | 0.47 |
| HEDP | 0.15 | 0.34 |
| 增白剂 | 0.06 | 0.04 |
| - 酞菁硫酸锌 | 0.0015 | 0.0020 |
| - 具有三甲基甲硅烷基封端单元 的聚二甲基硅氧烷 | 0.04 | 0.14 |
| 皂 | 0.5 | 0.7 |
| 香料 | 0.35 | 0.45 |
| 斑粒 | 0.5 | 0.6 |

实施例13

根据本发明的粒状洗衣洗涤剂组合物13A-C特别适用于欧洲洗衣机条件:

| 组分 | A | B | C |
|-----|-----|------|------|
| LAS | 7.0 | 5.61 | 4.76 |
| TAS | - | - | 1.57 |

| | | | |
|------------------|--------|--------|--------|
| C45AS | 6.0 | 2.24 | 3.89 |
| C25E3S | 1.0 | 0.76 | 1.18 |
| C45E7 | - | - | 2.0 |
| C25E3 | 4.0 | 5.5 | - |
| QAS | 0.8 | 2.0 | 2.0 |
| STPP | - | - | - |
| 沸石 A | 25.0 | 19.5 | 19.5 |
| 柠檬酸 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| NaSKS-6 | 8.0 | 10.6 | 10.6 |
| 碳酸盐 I | 8.0 | 10.0 | 8.6 |
| MA/AA | 1.0 | 2.6 | 1.6 |
| CMC | 0.5 | 0.4 | 0.4 |
| PB4 | - | 12.7 | - |
| 过碳酸盐 | - | - | 19.7 |
| TAED | - | 3.1 | 5.0 |
| 柠檬酸盐 | 7.0 | - | - |
| DTPMP | 0.25 | 0.2 | 0.2 |
| HEDP | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| QEA I | 0.9 | 1.2 | 1.0 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.02 | 0.05 | 0.035 |
| 脂肪酶 | 0.15 | 0.25 | 0.15 |
| 纤维素酶 | 0.28 | 0.28 | 0.28 |
| 淀粉酶 | 0.4 | 0.7 | 0.3 |
| PVPI/ PVNO | 0.4 | - | 0.1 |
| 光敏化的漂白剂 (ppm) | 15 ppm | 27 ppm | 27 ppm |
| 增白剂 1 | 0.08 | 0.19 | 0.19 |
| 增白剂 2 | - | 0.04 | 0.04 |

| | | | |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| 香料 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 泡腾颗粒 (苹果酸40%, 碳酸氢钠40%, 碳酸钠20%) | 15 | 15 | 5 |
| 聚硅氧烷消泡剂 | 0.5 | 2.4 | 2.4 |
| 少量组分/惰性组分至100% | | | |

实施例14

以下配方是根据本发明组合物的实施例，其可以是颗粒或片状。

| 组分 | 14 |
|--|------|
| C45 AS/TAS | 3.0 |
| LAS | 8.0 |
| C25AE3S | 1.0 |
| NaSKS-6 | 9.0 |
| C25AE5/AE3 | 5.0 |
| 沸石 A | 10.0 |
| SKS-6 (I) (干添加剂) | 2.0 |
| MA/AA | 2.0 |
| 柠檬酸 | 1.5 |
| EDDS | 0.5 |
| HEDP | 0.2 |
| PBI | 10.0 |
| NACA OBS | 2.0 |
| TAED | 2.0 |
| 碳酸盐 | 8.0 |
| 硫酸盐 | 2.0 |
| 淀粉酶 | 0.3 |
| 脂肪酶 | 0.2 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.02 |
| 少量组分(增白剂 /SRP1/ CMC/ 光漂白剂 / MgSO ₄ / PVPVI/ 抑泡剂 / PEG) | 0.5 |

| | |
|----|-----|
| 香料 | 0.5 |
|----|-----|

实施例15
液体织物清洗组合物

| <u>组分</u> | <u>实施例号</u> | |
|---------------------------------|-------------|------|
| | A | B |
| C ₁₂₋₁₄ 烯基琥珀酸 | 3.0 | 8.0 |
| 柠檬酸一水合物 | 10.0 | 15.0 |
| C ₁₂₋₁₅ 烷基硫酸钠 | 8.0 | 8.0 |
| 2摩尔乙氧基化的C ₁₂₋₁₅ 醇硫酸钠 | - | 3.0 |
| 7摩尔乙氧基化的C ₁₂₋₁₅ 醇 | - | 8.0 |
| 5摩尔乙氧基化的C ₁₂₋₁₅ 醇 | 8.0 | - |
| 二亚乙基三胺五(亚甲基膦酸) | 0.2 | - |
| 油酸 | 1.8 | - |
| 乙醇 | 4.0 | 4.0 |
| 丙二醇 | 2.0 | 2.0 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.01 | 0.02 |
| 抑泡剂 | 0.15 | 0.15 |
| NaOH | 最多至 pH 7.5 | |
| 过硼酸盐 | 0.5 | 1 |
| 苯酚磺酸盐 | 0.1 | 0.2 |
| 过氧化物酶 | 0.4 | 0.1 |
| 水和少量组分 | 最多至 100 % | |

实施例16
液体织物清洗组合物

| <u>组分</u> | <u>实施例号</u> |
|--------------------------|-------------|
| NaLAS (100%am) | 17 |
| Neodol | 16 |
| EDDS | 21.5 |
| 分散剂 | 1.2 |
| 过硼酸盐 | 1.3 |
| N-壬酰基-6-氨基己酸的苯酚磺酸酯 | 12 |
| 蛋白酶 ¹ (% 纯酶) | 6 |
| | 0.03 |

| | |
|------------------|-----------|
| 纤维素酶 | 0.03 |
| 溶剂 (BPP) | 18.5 |
| 聚合物 | 0.1 |
| 碳酸盐 | 10 |
| FWA 15 | 0.2 |
| TiO ₂ | 0.5 |
| PEG 8000 | 0.4 |
| 香料 | 1.0-1.2 |
| 抑泡剂 | 0.06 |
| 水和少量组分 | 最多至 100 % |

实施例17

两层泡腾假牙清洗片

| 组分 | 实施例编号 | | | |
|------------------|-------|------|-------|-------|
| | A | B | C | D |
| <u>酸性层</u> | | | | |
| 蛋白酶 ¹ | 1.0 | 1.5 | 0.01 | 0.05 |
| 酒石酸 | 24.0 | 24.0 | 24.00 | 24.00 |
| 碳酸钠 | 4.0 | 4.0 | 4.00 | 4.00 |
| 氨基磺酸 | 10.0 | 10.0 | 10.00 | 10.00 |
| PEG 20,000 | 4.0 | 4.0 | 4.00 | 4.00 |
| 碳酸氢钠 | 24.5 | 24.5 | 24.50 | 24.50 |
| 过硫酸钾 | 15.0 | 15.0 | 15.00 | 15.00 |
| 酸式焦磷酸钠 | 7.0 | 7.0 | 7.00 | 7.00 |
| 热生二氧化硅 | 2.0 | 2.0 | 2.00 | 2.00 |
| 甲乙酰乙二胺 | 7.0 | 7.0 | 7.00 | 7.00 |
| 香料 | 1.0 | 1.0 | 1.00 | 1.00 |
| <u>碱性层</u> | | | | |
| 过硼酸钠一水合物 | 32.0 | 32.0 | 32.00 | 32.00 |
| 碳酸氢钠 | 19.0 | 19.0 | 19.00 | 19.00 |
| EDTA | 3.0 | 3.0 | 3.00 | 3.00 |
| 三聚磷酸钠 | 12.0 | 12.0 | 12.00 | 12.00 |
| PEG 20,000 | 2.0 | 2.0 | 2.00 | 2.00 |

| | | | | |
|--------|-----|-----|------|------|
| 碳酸钠 | 2.0 | 2.0 | 2.00 | 2.00 |
| 热生二氧化硅 | 2.0 | 2.0 | 2.00 | 2.00 |
| 染料/香料 | 2.0 | 2.0 | 2.00 | 2.00 |

实施例18

粒状洗衣洗涤剂组合物18A-E特别适用于日本洗衣机条件并根据本发明制备:

| 组分 | A | B | C | D | E |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| LAS | 23.57 | 23.57 | 21.67 | 21.68 | 21.68 |
| FAS | 4.16 | 4.16 | 3.83 | 3.83 | 3.83 |
| 非离子表面活性剂 | 3.30 | 3.30 | 2.94 | 3.27 | 3.27 |
| 二(羟乙基)甲基烷基氯化铵 | 0.47 | 0.47 | 1.20 | 1.20 | 1.20 |
| SKS-6 | 7.50 | 7.50 | 5.17 | 5.76 | 5.06 |
| 聚丙烯酸盐共聚物 (MW 11000)(马来酸/丙烯酸盐比为4:6) | 7.03 | 7.03 | 14.36 | 14.36 | 14.36 |
| 沸石 | 11.90 | 11.40 | 10.69 | 11.34 | 11.34 |
| 碳酸盐 | 14.90 | 14.82 | 11.71 | 11.18 | 11.18 |
| 硅酸盐 | 12.00 | 12.00 | 12.37 | 12.38 | 12.38 |
| 蛋白酶 ¹ | 0.016 | 0.016 | 0.046 | 0.046 | 0.046 |
| 脂肪酶 | - | - | 0.28 | - | - |
| 淀粉酶 | - | - | 0.62 | - | - |
| 纤维素酶 | - | - | 0.48 | - | 0.70 |
| NOBS | 3.75 | 3.75 | 2.70 | 2.70 | 2.70 |

| | | | | | |
|------------------|------|------|------|------|------|
| PBI | 3.53 | - | 2.60 | - | - |
| 过碳酸钠 | - | 4.21 | - | 3.16 | 3.16 |
| SRP | 0.52 | 0.52 | 0.70 | 0.70 | 0.70 |
| 增白剂 | 0.31 | 0.31 | 0.28 | 0.28 | 0.50 |
| AE- 复合薄片 | 0.17 | 0.20 | 0.17 | 0.17 | 0.17 |
| 聚二甲基硅氧烷 | - | - | 0.68 | 0.68 | 0.68 |
| 香料 | 0.06 | 0.06 | 0.08 | - | - |
| 香料 | - | - | - | 0.23 | 0.23 |
| 疏水性沉淀二氧化硅 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| PEG4000 | 0.19 | 0.19 | 0.17 | 0.17 | 0.17 |
| 少量组分/惰性组分至 100 % | | | | | |

虽然已描述了本发明的具体实施方案，但在不脱离本发明精神和范围下可对本发明进行各种变化和修改，这对于本领域技术人员来说是显而易见的。在所附的权利要求书中意图覆盖了在本发明范围内的所有这样的修改。

本发明组合物可适宜用配方师选择的任何方法来制备，其非限制实施例描述在美国专利5691297；5574005；5569645；5565422；5516448；5489392和5486303中。

除了上述实施例外，本发明漂白组合物可配制成任何适合的洗衣洗涤剂组合物，其非限制实例描述在美国专利5679630；5565145；5478489；5470507；5466802；5460752；5458810；5458809和5288431中。

参考优选的实施方案和实施例，已详细描述了本发明，在不脱离本发明范围下可作各种变化和修改，这对于本领域技术人员来说是显然的，并且不认为本发明限制在说明书中所述内容。

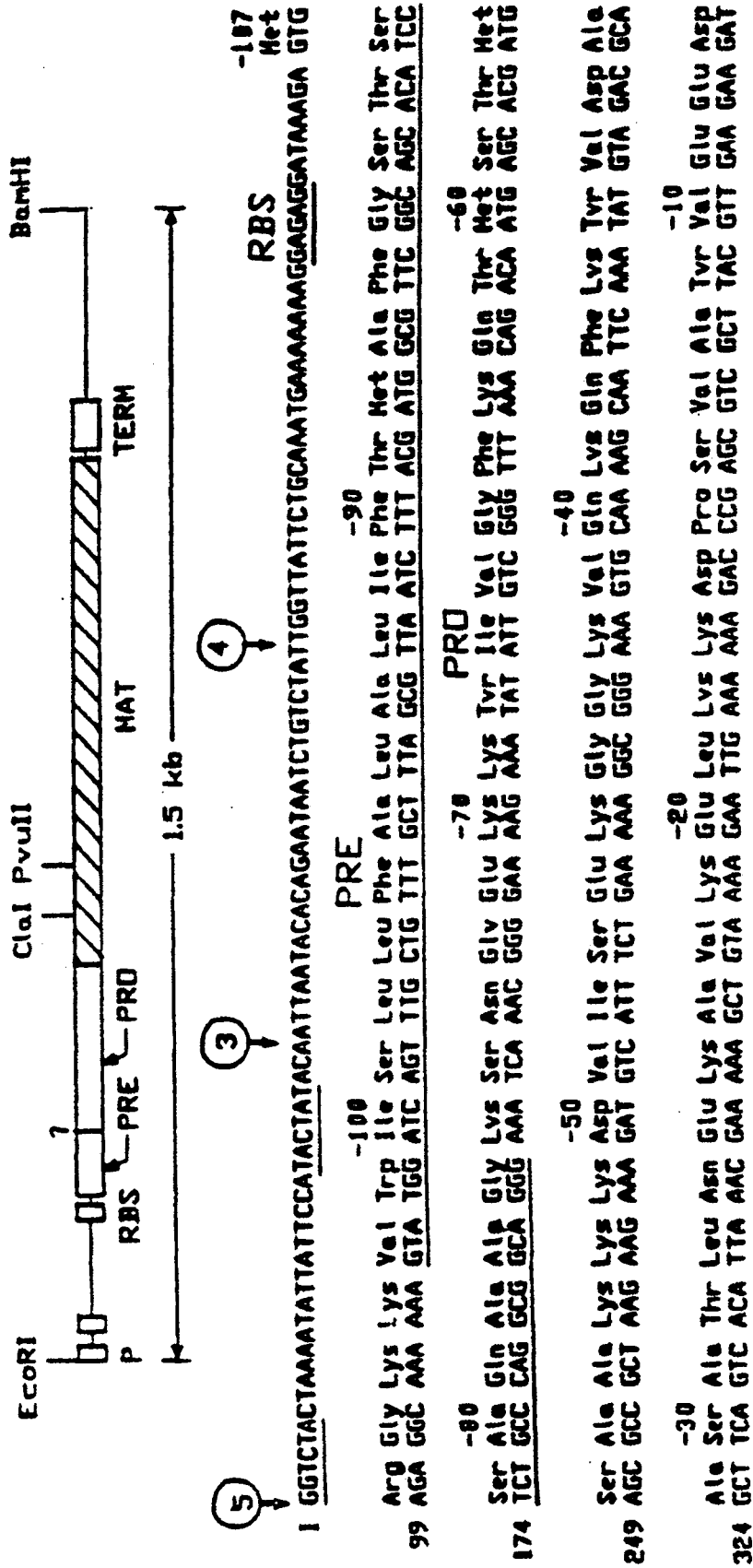


图 1A

-1 → MAT

399 His Val Ala His Ala Tyr Ala Gln Ser Val Pro Tyr Gly Val Ser Gln Ile Lys Ala Pro Ala Leu His Ser Gln
 CAC GTA GCA CAT GCG TAC GCG CAG TCC GTG CCT TAC GGC GTA TCA CAA ATT AAA GCC CCT GCT CTG CAC TCT CAA

474 Gly Tyr Thr Gly Ser Asn Val Lys Val Ala Val Ile Asp Ser Gly Ile Asp Ser Ser His Pro Asn Leu Lys Val
 GGC TAC ACT GGA TCA AAT GTT AAA GTA GCG GTT ATC GAC AGC AGC GGT ATC GAT TCT TCT CAT CCT GAT TTA AAG GTA

549 Ala Gly Gly Ala Ser Met Val Pro Ser Glu Thr Asn Pro Phe Gln Asp Asn Asn Ser His Gly Thr His Val Ala
 GCA AGC GGA GCC AGC ATG GTT CCT TCT GAA ACA AAT CCT TTC CAA GAC AAC AAC TCT CAC GGA ACT CAC GTT GCC

624 Gly Thr Val Ala Ala Leu Asn Asn Ser Ile Gly Val Leu Gly Val Ala Pro Ser Ala Ser Leu Tyr Ala Val Lys
 GGC ACA GTT GCG GCT CTT AAT AAC TCA ATC GGT GTA TTA GGC GTT GCG CCA AGC GCA TCA CTT TAC GCT GTA AAA

699 Val Leu Gly Ala Asp Gly Ser Gly Gln Tyr Ser Trp Ile Ile Asn Gly Ile Glu Trp Ala Ile Ala Asn Asn Met
 GTT CTC GGT GCT GAC GGT TCC GGC CAA TAC AGC TGG ATC ATT AAC GGA ATC GAG TGG GCG ATC GCA AAC AAT ATG

774 Asp Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Gly Pro Ser Gly Ser Ala Ala Leu Lys Ala Ala Val Asp Lys Ala Val Ala
 GAC GTT ATT AAC ATG AGC CTC GGC GGA CCT TCT GGT TCT GCT GCT TTA AAA GCG GCA GTT GAT AAA GCC GTT GCA

849 Ser Gly Val Val Val Val Ala Ala Gly Asn Glu Gly Thr Ser Gly Ser Ser Thr Val Gly Tyr Pro Gly
 TCC GGC GTC GTA GTC GTT GCG GCA GCC GGT AAC GAA GGC ACT TCC GGC AGC TCA AGC ACA GTG GGC TAC CCT GGT

图 1B

```

170 Tyr Pro Ser Val Ile Ala Val Gly Ala Val Asp Ser Ser Asn Gln Arg Ala Ser Phe Ser Ser Val Gly Pro
Lys AAA TAC CCT TCT GTC ATT GCA GTA GGC GCT GTT GAC AGC AAC CAA AGA GCA TCT TTC TCA AGC GTA GGA CCT
924

180
200 Gln Leu Asp Val Met Ala Pro Gly Val Ser Ile Gln Ser Thr Leu Pro Gly Asn Lys Tyr Gly Ala Tyr Asn Gly
GAG CTT GAT GTC ATG GCA CCT GGC GTA TCT ATC CAA AGC ACG CTT CCT GGA AAC AAA TAC GGG GCG TAC AAC GGT
999

210
220 Ser Met Ala Ser Pro His Val Ala Gly Asl Ala Ala Leu Ile Leu Ser Lys His Pro Asn Trp Thr Asn Thr
1074 ACG TCA ATG GCA TCT CCG CAC GAT GCC GGA GCG GCT GCT TTG ATT CTT TCT AAG CAC CCG AAC TGG ACA AAC ACT

230
250 Gln Val Arg Ser Ser Leu Gln Asn Thr Thr Lys Leu Gly Asp Ser Phe Tyr Tyr Gly Lys Gly Leu Ile Asn
1149 CAA GTC CGC AGC AGT TTA GAA AAC ACC ACT ACA AAA CTT GGT GAT TCT TTG TAC TAT GGA AAA GGG CTG ATC AAC

260
270 Val Gln Ala Ala Ala Gln DC
Val GTA CAA GCG GCA GCT CAG TAA AACATAAAACCGGGCTGGCCCCGGGTTTTTATTTTTTCTCCGGCATGTTCAATCGGCTCC
1224

275 TERM
1316 ATAATCGCGGATGGCTCCCTCTGAAAATTTTACGAGAACCGGGGTTGACCCGGCTCAGTCCCGTAACGGCCAACTCCTGAAAGTCTCAATCGCGG
1416 CTTCGGGTTCCGGTCAGCTCAATGCCATAACGGTGGGGGGTTTTTCTGTATACGGGAGACGGGATTCGTAATCGGATC

```

图 1C

由解淀粉芽孢杆菌得到的枯草溶菌素中的保守残基

```

1           10           20
A Q S V P . G . . . . . A P A . H . . G

21          30          40
. T G S . V K V A V . D . G . . . . H P

41          50          60
D L . . . G G A S . V P . . . . . Q D

61          70          80
. N . H G T H V A G T . A A L N N S I G

81          90          100
V L G V A P S A . L Y A V K V L G A . G

101         110         120
S G . . S . L . . G . E W A . N . . . .

121         130         140
V . N . S L G . P S . S . . . . . A . .

141         150         160
. . . . . G V . V V A A . G N . G . . .

161         170         180
. . . . . Y P . . Y . . . . A V G A .

181         190         200
D . . N . . A S F S . . G . . L D . . A

201         210         220
P G V . . Q S T . P G . . Y . . . . N G T

221         230         240
S M A . P H V A G A A A L . . . . K . . .

241         250         260
W . . . Q . R . . L . N T . . . . L G . .

261         270
. . Y G . G L . N . . A A . .

```

图 2

由以下得到的枯草溶菌素序列的比较:

解淀粉芽孢杆菌
枯草芽孢杆菌
地衣形芽孢杆菌
缓慢芽孢杆菌

| | | | |
|-----|---|-----|-------------------------------|
| 01 | A Q S S V P Y G V S S Q I K A P A L H S S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P P | 30 | V A V I D S G I D S S S H P P |
| | A Q S S V P Y G V S S Q I K A P A L H S S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P P | | V A V I D S G I D S S S H P P |
| | A Q S S V P Y G V S S Q I K A P A L H S S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P P | | V A V I D S G I D S S S H P P |
| | A Q S S V P Y G V S S Q I K A P A L H S S Q G Y T G S S N V K V A V I D S G I D S S S H P P | | V A V I D S G I D S S S H P P |
| 41 | D L L K V A R G G A S F V P S E T N P F Q D D N S H G T H V A A G T V A A L N N S I G | 70 | V A A G T V A A L N N S I G |
| | D L L N V V R G G A S F V P S E T N P F Q D D N S H G T H V A A G T V A A L N N S I G | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | D L L N V V R G G A S F V P S E T N P F Q D D N S H G T H V A A G T V A A L N N S I G | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | D L L N V V R G G A S F V P S E T N P F Q D D N S H G T H V A A G T V A A L N N S I G | | V A A G T V A A L N N S I G |
| 61 | V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S W I I N G I E W A I A N N M D | 110 | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S W I I N G I E W A I A N N M D | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S W I I N G I E W A I A N N M D | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V L G V A P S A S L Y A V K V L G A D G S G Q Y S W I I N G I E W A I A N N M D | | V A A G T V A A L N N S I G |
| 121 | V I N N S L G G P S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V V A A A G N E G T S S G | 150 | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V I N N S L G G P S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V V A A A G N E G T S S G | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V I N N S L G G P S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V V A A A G N E G T S S G | | V A A G T V A A L N N S I G |
| | V I N N S L G G P S G S A A L K A A V D K A V A S G V V V V A A A G N E G T S S G | | V A A G T V A A L N N S I G |

图 3/A


```

161  S S T N T * * I S Y P P A R Y A N A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
S S T N T * * I S Y P P A R Y A N A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
S S T N T * * I S Y P P A R Y A N A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
170  P S S T I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
P S S T I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
P S S T I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
180  V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
190  V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
V I A V G A V D S S N Q R A S F S S V G P E L D V M A
201  P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
210  P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
220  P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
230  P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
P P G V B I Q S T L P P G N K Y G A Y N G T S M A S P H V A G A A A L I L S K H P P N
241  W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
250  W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
260  W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
270  W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q
W T N A B V T Q Q V R R S L E N T T K L G D S S F Y Y Y Y G K G L I N V Q A A A Q

```

图 3/B